

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

SUR UN BACILLE
TROUVÉ DANS UN CAS DE SEPTICÉMIE HÉMORRAGIQUE
PRÉSENTANT CERTAINS CARACTÈRES
DU
TYPHUS EXANTHÉMATIQUE

Par V. BABES ET V. OPRESCU.

Avec la planche VII.

(Travail de l'Institut de pathologie et de bactériologie de Bucharest.)

Les descriptions du typhus exanthématique et des lésions qu'on y rencontre donnent l'impression qu'il ne s'agit pas d'une maladie reconnaissant toujours la même étiologie.

Le typhus exanthématique revêt en effet des formes cliniques variables, épidémiques, endémiques ou sporadiques. Si l'on peut le distinguer facilement de la fièvre typhoïde, sa distinction d'avec les septicémies hémorragiques est très difficile ; on n'y parvient qu'en tenant compte de l'absence de lésions externes antérieures, et de l'épidémicité et de la contagiosité du typhus. Mais si ces données font défaut, comme dans l'observation qui fait l'objet de ce mémoire, il est difficile de se prononcer sur la nature de la maladie.

Le 20 septembre 1889 succombait dans le service de clinique médicale de M. le professeur Stoicescu à Bucharest, le nommé Gheorghe B., ouvrier typographe, âgé de 22 ans. L'histoire clinique du malade se résume en peu de mots, à raison de son court séjour à l'hôpital : état de prostration avec une légère tendance au coma, alternant parfois avec un délire calme ; tempéra-

ture fébrile s'élevant à 41° C; la peau desséchée était parsemée de petites taches ecchymotiques ressemblant à une éruption de purpura hémorragique. Il y avait en outre des troubles intestinaux traduits par des selles diarrhéiques. Dans les derniers jours de la vie apparurent, le long des veines superficielles des régions antérieures du thorax et de l'abdomen, des stries rougeâtres; en même temps la partie supérieure du corps était un peu gonflée et d'une couleur brunâtre sale, comme au commencement de la putréfaction.

A l'autopsie, faite 40 heures après la mort, on constata les lésions suivantes:

Le cadavre offrait une couleur sombre des téguments tout à fait particulière, que l'on ne pouvait pas attribuer à la putréfaction ordinaire, vu la basse température et le court intervalle écoulé depuis la mort. La peau de la région abdominale était parsemée de nombreuses taches ecchymotiques. Du côté de l'encéphale, on constatait une forte congestion et un œdème des méninges, avec infiltration d'un liquide un peu trouble, rougeâtre, dans les sillons; la substance corticale est d'un gris très foncé, la substance médullaire blanchâtre, plus molle, plus plastique qu'à l'état normal.

Les amygdales augmentées de volume, proéminentes, d'un gris verdâtre, renferment dans leurs cryptes une substance crèmeuse putride. Le tissu connectif du cou est infiltré d'un liquide jaunâtre un peu gélatineux; cet œdème se prolonge aussi dans le tissu conjonctif du médiastin antérieur. Les poumons sont hyperémis, denses, et montrent par places, autour des bronches, une infiltration sanguinolente. Le poumon droit est plus dur, plus résistant, pâle, sclérosé au sommet, avec de petites cavernes arrondies, remplies d'une substance ressemblant au mortier. Le péricarde viscéral est parsemé de petites taches ecchymotiques; la musculature du cœur est décolorée, flasque; les cavités du cœur renferment peu de sang liquide. La rate, augmentée de volume, mesure 22 centimètres de longueur et 15 centimètres de largeur; la capsule en est mince, tendue, la pulpe fragile, d'un rouge brunâtre très foncé; elle s'enlève facilement. Le foie et les reins sont augmentés de volume, flasques, pâles, grisâtres, la substance corticale du rein plus flasque, plus pâle, plus succulente qu'à l'état normal. Du côté du système digestif, on constate un œdème des parois et un catarrhe aigu de la muqueuse des intestins. La vessie renferme une urine trouble. L'examen microscopique révèle les lésions suivantes :

Dans le foie, les cellules sont granuleuses, souvent sans noyaux, et l'on voit des groupes de bactilles fins dans certains vaisseaux intra-lobulaires. Dans la rate, il y a beaucoup de grandes cellules, ayant un noyau fragmenté; le réseau lymphatique en est plus pâle, les lacunes dilatées.

Le rein présentait des lésions bien curieuses, en ce sens qu'en outre d'une dégénérescence trouble et un peu graisseuse, il y avait par places des embolies de microbes à l'intérieur de certains glomérules, dont les parois montraient un aspect que nous avons d'abord considéré comme l'expression d'un commencement de dégénérescence amyloïde. La paroi de certaines anses, surtout de celles occupées par des microbes, est devenue plus grosse, uniforme, luisante, se colorant très bien par les couleurs d'aniline, mais sans donner la réaction de la substance amyloïde. On ne trouvait point d'hémorragies dans le tissu de l'organe.

Comme le complexus symptomatique ne laissait aucun doute sur la nature infectieuse de la maladie, nous avons pratiqué l'examen bactériologique des organes.

Dans ce but, nous avons ensemencé avec les divers organes 20 tubes renfermant différentes substances nutritives; avec chaque organe, nous avons procédé d'après la méthode de la dilution progressive. Les substances employées ont été la gélose simple ou glycérinée, la gélatine, le bouillon, le serum de bœuf et la pomme de terre. Les différents tubes ont été exposés, soit à la température du corps, soit à une température de 18 à 20° C. Nous avons ensemencé en même temps la surface et la profondeur des milieux nutritifs. Pour l'examen microscopique, nous avons fait, avec le suc des organes des préparations étalées sur des porte-objets, colorées, après dessication, avec le violet de méthyle B.

Comme tous les organes, dont nous avions fait des ensemencements, ont donné des colonies caractéristiques d'un même microbe à l'état de pureté, nous donnerons comme type la description des cultures obtenues avec le suc de la rate.

Cultures sur gélose. — Sur la gélose gélatinisée obliquement, maintenue à l'étuve chauffée à 37° C., on voit à la surface une mince bande le long de la strie, composée, à la partie supérieure, de colonies rondes, un peu saillantes, luisantes, d'un millimètre ou plus, blanchâtres et transparentes. A la partie inférieure, elles sont confluentes sous forme d'une couche plus blanchâtre, transparente aussi; au-dessous de la surface il y a des cristaux acidulés; dans le liquide de condensation il se produit un précipité d'un blanc brunâtre. Sur la gélose glycérinée, les colonies sont déjà très appréciables à l'œil nu au bout de 12 heures; le précipité y est plus abondant. Les cultures dégagent un peu d'odeur de putréfaction. Dans les cultures plus vieilles, on voit aussi une strie très prononcée dans la profondeur; les cristaux sont plus apparents; au-dessous de la surface, le précipité devient plus dense, d'un blanc grisâtre, crémeux.

Cultures sur gélatine. — Ces cultures ont été faites par piqûre. A la surface on remarque une pellicule assez élevée, irrégulière, lobulée, blanchâtre, assez transparente, ayant l'aspect de la paraffine; le long de la piqûre, on voit s'échelonner

des colonies d'un blanc jaunâtre, qui augmentent dans la profondeur, où elles ont pris l'aspect de sphérules d'un diamètre qui va jusqu'à 1 ou 2 millimètres; celles qui sont le plus éloignées de la surface deviennent d'un brun manifeste.

Au bout de 8 jours la culture présente l'aspect suivant : à la surface on remarque de grandes plaques confluentes, fort transparentes, limitées par une circonférence assez irrégulière, entourée par une dentelure plus élevée et crénelée. Le long de la piqûre on voit des globes, séparés les uns des autres, d'un diamètre variable, lenticulaires, d'un blanc brunâtre. Au bout de 2 mois, la colonie de la surface est devenue concentrique, plus transparente ; les colonies situées immédiatement au-dessous de la plaque sont devenues presque brunes ; dans la profondeur elles ont augmenté encore de volume. On remarque des cristaux au niveau de la colonie superficielle.

La gélatine n'est jamais liquéfiée.

Cette dernière substance, additionnée de suc de pommes de terre, est un milieu encore plus favorable au développement du bacille. Les colonies assez nombreuses augmentent de volume d'autant plus qu'elles s'éloignent de la surface.

Le microbe est facultativement anaérobiose.

Cultures sur pomme de terre. — Les colonies se font remarquer à la surface sous la forme d'une mince couche grisâtre, uniforme, très transparente, parfois d'un gris brunâtre, peu apparente ; en bas, des colonies plus élevées forment un réseau brillant. Au fond du tube, le liquide renferme un précipité blanchâtre ou d'un jaune brunâtre, assez abondant. Au bout de quelques jours, la pomme de terre prend une nuance brune assez manifeste.

Sur le *sérum de bœuf* on voit apparaître des colonies convexes transparentes, d'un diamètre qui dépasse rarement 1 millimètre, avec des bords élevés.

Cultures dans le bouillon. — Le trouble est très apparent au bout de 10 heures ; 24 heures après, il commence à se former au fond du tube un précipité blanchâtre plus abondant quand on ajoute du glucose ; en vieillissant, le liquide devient jaunâtre et la surface se couvre d'une mince pellicule.

CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES ET BIOLOGIQUES.

Les cultures ont été examinées après dessiccation dans une goutte d'eau étendue sur un porte-objet, et après coloration avec le violet de méthyle B. On constate ainsi, dans les cultures sur gélose, des micro-organismes en forme de bâtonnets assez courts et comme coupés, mêlés à des formes un peu ovales ; ils ne sont pas uniformément imprégnés par la matière colorante ; à côté d'individus qui restent pâles, il y en a d'autres mieux colorés, possédant des extrémités plus foncées, parfois même pointues ; leur largeur est de $0,4 - 0,5 \mu$: souvent même ils se réunissent deux à deux pour former des diplo-bactéries. (Pl. VII, fig. 2).

Dans la gélatine, les formes ovales sont plus nombreuses, leur largeur est moindre, leur coloration un peu diffuse, à la périphérie surtout : du reste, on voit aussi des individus mieux colorés, ils paraissent souvent entourés par une capsule ; leur largeur est de $0,3 - 0,4 \mu$. (Pl. VII, fig. 3.) Souvent, surtout dans les cultures fraîches, les bacilles sont très courts et renflés à leurs deux extrémités en forme de 8 (fig. 4). L'ensemble est incolore, et c'est seulement au point de contact des renflements qu'on retrouve l'aspect bacillaire sous forme d'un peu de substance chromatique.

Sur les pommes de terre, on trouve des bacilles rectilignes, parallèles, renflés parfois à l'une de leurs extrémités : leur largeur est variable ; à côté de bâtonnets courts et un peu plus épais, il y en a d'autres plus longs et mieux colorés, disposés en groupes arrondis. Sur les préparations faites avec l'exsudat fibrineux de la cavité pleurale d'un lapin mort à la suite de l'infection due à ce microbe, les bâtonnets, avec des extrémités bien coupées, laissaient voir en leur milieu un espace clair bien prononcé. Nous n'avons d'ailleurs pas observé de sporulation.

Quand on examine à l'état frais une culture dans le bouillon, après coloration par une solution peu concentrée de violet de méthyle, les bacilles, souvent réunis deux à deux, paraissent toujours pleins, les formes ovales sont ici mêlées avec des formes carrées ou bacillaires et se colorent faiblement par la méthode de Gram.

Si les bacilles cultivés sur les différents milieux sont un peu variables de forme et de dimension, ils offrent un caractère constant dont on ne peut nier l'importance, c'est leur grande mobilité, qu'ils conservent même assez longtemps dans le bouillon. Les mouvements ressemblent à ceux du bacille de la fièvre typhoïde, qu'ils surpassent en énergie. Dans une culture dans le bouillon, âgée de 11 jours, on observe encore des mouvements assez énergiques.

Le degré de température favorable au développement oscille entre 18° et 37° C. ; dans le bouillon, le développement ne s'est pas arrêté à 46° C. ; à cette température même, le bouillon s'est troublé 8 heures après l'ensemencement. Cette température n'exerce aucune action sur la longueur du bacille, contrairement à ce qui s'observe chez le bacille de la fièvre typhoïde. Toutes ces cultures sont saprogènes. Sur la gélose additionnée de glucose, il développe beaucoup de gaz.

Le bacille pousse très bien dans le liquide de Petruschky ; la substance nutritive bleuit déjà au bout de 24 heures. Le bouillon préparé avec la chair d'un lapin mort à la suite de l'infection avec ce bacille est encore un bon milieu nutritif.

Les cultures dans le bouillon peptonisé ne nous ont pas donné la réaction de l'indol. La vitalité du bacille persiste longtemps dans les tubes de culture; elle se maintient plus longtemps sur la gélatine que sur la gélose. L'action d'une température de 85° suffit au bout de 3 quarts d'heure à détruire la vitalité du bacille. Sa résistance à la dessiccation est assez grande; une goutte de culture sur bouillon, desséchée pendant 3 jours, renferme encore des bacilles vivants.

EFFETS PATHOGÈNES DU BACILLE.

Nos expériences ont été faites sur les souris, les lapins, les cobayes, les pigeons, la corneille et les chiens, en nous servant pour les inoculations de cultures sur gélose, gélatine, pommes de terre et bouillon; ces dernières se sont montrées particulièrement virulentes pour les lapins.

I. Avec une culture sur gélose obtenue avec la rate humaine, on a inoculé, à l'aide de l'aiguille de platine, le huitième jour

après l'ensemencement, une souris à la base de la queue. L'animal succomba douze heures après, avec un œdème hémorragique assez étendu autour du lieu d'inoculation ; le foie était pâle, la rate augmentée de volume, les reins et les poumons injectés ; ces organes ont servi à faire de nouvelles cultures du même microbe.

II. Une autre souris a été inoculée de la même manière avec une culture sur gélatine obtenue avec le liquide du médiastin antérieur ; l'animal succomba au bout de quatre jours ; à l'autopsie, nous lui avons trouvé une rate qui avait presque le double de son volume normal ; la pulpe en est d'une couleur plus foncée, les autres organes sont hypérémiés. Les ensemencements faits nous ont donné des cultures caractéristiques du même bacille à l'état de pureté.

III. — Avec une culture sur gélose, âgée de 2 mois, obtenue avec la rate de cette dernière souris, on a inoculé une autre souris sous la peau ; l'animal succomba quatre jours après ; par les cultures, nous avons constaté la présence du bacille dans le sang, les poumons, le foie, les reins, la rate et le liquide périctonéal.

IV. — Avec une colonie superficielle sur gélatine, ensemencée avec la rate de la souris précédente, on a inoculé sous la peau une autre souris. Comme nous voulions savoir s'il y avait des différences entre la virulence des colonies superficielles et de celles qui se sont développées dans la profondeur à l'abri de l'air, nous avons inoculé de la même manière une autre souris (V) avec une colonie prise dans la profondeur de la substance. Les deux animaux ont succombé presque en même temps ; à leur autopsie, notre attention a été particulièrement attirée par la couleur foncée, noirâtre du foie et de la rate ; ce dernier organe est sensiblement augmenté de volume.

Après l'inoculation, la respiration de ces animaux est très fréquente, ils hérisSENT leurs poils et se ramassent presque en boule.

On voit donc que l'action locale du bacille consiste dans la production d'un œdème et d'hémorragies au voisinage du lieu d'inoculation, tandis que l'effet général consiste dans l'envahissement de tous les organes par le bacille, dans une septicémie avec hypertrophie de la rate et coloration foncée brunâtre

des organes internes. Les lésions sont donc essentiellement les mêmes que celles observées chez l'homme.

VI. — Avec une culture de 8 jours, obtenue avec la rate de l'homme, on a fait une émulsion que l'on a injectée dans le muscle pectoral d'un pigeon. Quatre jours après, l'animal succomba avec une tumeur du muscle et avec hypérémie des organes internes. Avec la tumeur, le sang du cœur et les autres organes, on a obtenu de nouveau le même micro-organisme à l'état de culture pure. Les inoculations faites plus tard avec des cultures dans le bouillon n'ont plus tué les pigeons; seulement, après cette inoculation, ils deviennent réellement malades; ils hérissent leurs plumes et ne mangent presque rien pendant quelques jours.

VII. — Une corneille, à laquelle on a inoculé dans le péritoine un centimètre cube d'une culture dans le bouillon, succomba au bout de 8 jours. Dans les cultures faites avec le foie, on a constaté les colonies du même bacille.

VIII. — Un cobaye, inoculé dans le péritoine avec un centimètre cube d'une émulsion faite avec une culture récente sur gélose glycérinée, succomba 18 heures après; à l'autopsie on lui trouva une rate très augmentée de volume; les intestins hypéremiés, le péritoine recouvert de fausses membranes fibrineuses. Les ensemencements faits avec le foie, la rate, les reins et le péritoine nous ont donné les mêmes cultures caractéristiques.

IX. — Un autre lapin a été inoculé sous la peau avec une culture, de troisième passage sur pomme de terre, obtenue avec l'amygdale humaine; il succomba au bout de 2 jours, avec une péritonite et des ecchymoses péritonéales; la rate était augmentée de volume; les autres organes congestionnés. Les ensemencements sur les différentes substances nutritives nous ont donné des cultures pures avec les reins, le sang du ventricule gauche, la rate, le foie, le péritoine.

Deux autres lapins ont reçu : l'un, dans une veine de l'oreille, $\frac{1}{2}$ centimètre cube d'une émulsion faite avec une culture sur gélose provenant de la rate humaine; l'autre, sous la peau, 1 centimètre cube d'une émulsion faite avec une culture provenant du foie humain. Un chien a reçu, sous la peau, 5 centimètres cubes de cette même émulsion. Il a résisté. Les deux lapins ont succombé dans les mêmes conditions que les précédents. Ultérieurement nous avons constaté que ces animaux sont très

sensibles à l'action du bacille, quand on le cultive dans le bouillon peptonisé. Ces cultures sont, à l'état frais, d'une virulence telle, que l'injection d'une seule goutte dans la chambre antérieure de l'œil du lapin a déterminé la mort de l'animal au bout de 48 heures.

En vieillissant, les cultures perdent peu à peu leur virulence. Ainsi, tandis qu'avec une culture récente il suffit d'une quantité minime et d'un temps assez court pour tuer un lapin, avec les cultures plus vieilles il faut augmenter la dose et attendre plus longtemps. En général, après l'inoculation d'une culture récente, les lapins sont morts au bout de 2, 3 ou 4 jours; avec les cultures plus vieilles, les animaux ont succombé au bout de 14 ou 15 jours; en renouvelant les cultures, on peut conserver la virulence pendant un an et demi au moins.

De tous les animaux d'expérience, le chien seul s'est montré réfractaire à l'infection. Nous avons essayé l'inoculation sous la peau, dans la chambre antérieure et dans la cavité pleurale; les animaux, après avoir montré de petits nodules inflammatoires au point d'inoculation, ont toujours surmonté l'infection.

RELATIONS DU MICROBE AVEC LES TISSUS

Lésions des organes d'un pigeon ayant succombé à l'infection par le bacille. — Dans le foie, les grands vaisseaux dilatés sont entourés de foyers embryonnaires; le tissu interstitiel est hypérémié, les cellules du foie sont plus granuleuses et se colorent avec difficulté. En outre, on constate des foyers plus grands, irréguliers, intralobulaires, qui sont constitués de la manière suivante: A la périphérie, on voit des cellules hépatiques à l'état de prolifération, de même qu'une agglomération de leucocytes avec des noyaux qui deviennent, vers la limite du foyer, de plus en plus vésiculeux; aux bords de ces foyers, tous les vaisseaux sanguins sont oblitérés par des caillots composés de bacilles courts, fins, ayant de 0,3 à 0,4 μ de largeur, parfois granuleux, en sorte qu'ils donnent l'impression de coccus. A son centre, le tissu du foyer est tout à fait incolore; là et là on aperçoit encore le contour des vaisseaux dilatés, qui sont pourtant vides de sang. Dans quelques points seulement, on voit s'étendre, vers le milieu du foyer, un vaisseau ou un groupe de vaisseaux (Pl. VII, fig. 5).

Dans la tumeur du muscle pectoral; on peut poursuivre le développement des lésions musculaires et vasculaires, ainsi que la relation du microbe avec les éléments du tissu.

Tout d'abord on constate une dilatation très remarquable des vaisseaux, qui sont entourés d'une agglomération de leucocytes polynucléaires, avec gonflement vacuolaire de ces éléments; les muscles semblent peu modifiés; leur striation longitudinale paraît plus évidente, ils deviennent plutôt hyalins et se colorent mieux qu'à l'état normal; leurs noyaux se gonflent: dans ce stade, les microbes bien colorés se trouvent dans le tissu conjonctif qui paraît œdémateux, les bacilles y sont plus disséminés; parfois ils forment des filaments, qui renferment des points chromatiques.

Plus tard, on observe en même temps une diapédèse très remarquable avec gonflement des leucocytes, une prolifération des cellules fixes et spécialement des noyaux musculaires. Cet exsudat comprime les vaisseaux et les fibres musculaires qui deviennent fragmentées, hyalines, et se trouvent souvent en fragmentation transversale, d'où il résulte des disques irréguliers; les leucocytes perdent leurs limites précises; en outre, on rencontre des granulations chromatiques résultant de la destruction des leucocytes; les microbes sont en dégénérescence, pâles, raccourcis, fragmentés, disposés en petits groupes dans les espaces intercellulaires.

Chez les lapins, on constate dans les reins les lésions suivantes : l'épithélium rénal est plus pâle, jaunâtre, un peu tuméfié, renfermant parfois des substances hyalines; les glomérules sont plus riches en cellules, ils contiennent parfois aussi des leucocytes avec des noyaux fragmentés; il existe aussi quelques cellules endothéliales, montrant des figures karyokinétiques. Dans quelques glomérules, une partie des anses, dont la paroi est un peu épaisse et uniforme, sont très dilatées par des bouchons formés de bacilles qui occupent souvent tout un segment du glomérule; au voisinage même de certains glomérules, il y a des tubes contournés, tapissés par un épithélium vacuolaire.

Dans le foie, on trouve les vaisseaux dilatés, les cellules plus pâles, les nucléoles seuls étant colorés; parfois on ne trouve plus d'éléments colorés dans ces cellules.

Chez les souris, nous avons trouvé les lésions suivantes :

La rate renferme peu de cellules et beaucoup de granulations; dans les petits vaisseaux il y a des bouchons de bacilles que l'on rencontre aussi dans le tissu de la rate, sans qu'ils soient bien limités, en sorte que l'on voit de grands territoires de la pulpe, renfermant de grands noyaux pâles, parsemés de bacilles caractéristiques.

Dans les reins, les glomérules montrent par places une dégénération hyaline des parois des anses glomérulaires; mais une minime partie des glomérules contient des microbes.

Dans les organes d'une autre souris, nous avons trouvé des lésions assez caractéristiques. Ainsi, dans les reins, les tubes contournés sont dilatés, l'épithélium est rempli de vacuoles disposées en forme de couronne; les noyaux sont devenus assez rares pour que beaucoup de cellules en soient privées, les canalicules sont remplis d'une substance granuleuse qui se colore en rose avec la rubine de Löffler, de telle sorte que la périphérie reste blanche tandis que le centre est rouge. Les vaisseaux sont dilatés, remplis de sang, leurs parois sont devenues hyalines; à leur intérieur, on ne voit point de microbes. Les artères sont entourées d'une large zone de leucocytes.

La lésion la plus caractéristique est offerte dans les glomérules: ceux-ci sont augmentés de volume, la paroi des anses est épaisse, uniforme, hyaline, brillante, fortement colorée; la lumière en est de beaucoup rétrécie, à l'exception des parties où les anses sont remplies des bacilles caractéristiques. Le vaisseau afférent est souvent rempli de bacilles, en sorte qu'ici chaque glomérule contient de grandes masses de bacilles, qui s'y localisent presque uniquement (Pl. VII, fig. 4).

Dans la pulpe de la rate, les vaisseaux sont remplis de bacilles fins; en d'autres endroits, les microbes se répandent dans le tissu lacunaire. Par places, on voit autour des foyers une aggrégation de cellules; les vaisseaux, d'un calibre un peu plus grand, sont souvent obstrués par le pigment brun ou par une masse uniformément colorée et par des cellules plus grandes que les leucocytes; de plus la masse, uniforme, renferme souvent de petits groupes de bacilles. En général, la rate renferme plusieurs cellules très grandes avec un noyau hypertrophié, irrégulier, entouré par plus ou moins de protoplasme.

Il résulte de ces recherches que les animaux inoculés avec

ce bacille présentent, de même que l'homme, une fièvre notable, la tuméfaction de la rate, la généralisation du microbe dans les organes, sans foyers inflammatoires ou purulents visibles à l'œil nu, c'est-à-dire des lésions de la septicémie. Mais, en outre nous voyons, ici comme chez l'homme, une pigmentation des organes et aussi des lésions vasculaires particulières.

Le chimiste de notre Institut, M. le Dr A. Babes, a réussi à séparer des cultures dans du bouillon sans peptone deux espèces d'albuminoïses : l'une qui est soluble dans l'eau, de couleur brun foncé, comme la poudre de café, l'autre soluble dans l'eau acidulée avec l'acide acétique; toutes les deux donnant la réaction du biuret. Bien qu'obtenues en très petites quantités, nous les avons employées pour faire des inoculations chez les lapins. Elles ont déterminé des effets pathogènes. L'albuminoïse brune a produit, même à très petite dose, des phénomènes toxiques, à la suite desquels l'animal est mort au bout de huit jours, après avoir présenté une réaction fébrile assez intense et un œdème hémorragique au point d'inoculation.

L'analyse de la précédente observation présente un bon exemple de ces cas de septicémie avec hémorragie, qui se développent spontanément, et qui diffèrent du typhus pétéchial par l'absence du caractère épidémique, par les symptômes de la maladie, par la coloration foncée de la peau et des organes internes, qui nous avaient fait soupçonner d'abord ici une origine palustre. Mais comme nous n'avons trouvé nulle part ni le pigment noir de la malaria, ni les parasites du sang, nous avons éliminé la malaria.

Différents auteurs ont entrepris des recherches bactériologiques sur le typhus exanthématique, mais avec des résultats peu satisfaisants. Ainsi Illava (*Arch. Bohèmes de médec.*, août 1889) a trouvé dans plusieurs cas, dans les organes des individus ayant succombé au typhus exanthématique, un bacille très court, gros, formant des chaînettes. Il pousse sur la gélose sans caractères spéciaux, mais non sur gélatine à la température de la chambre; il détermine une élévation de la température et des taches rouges sur la peau des petits cochons, mais rien chez le lapin, le cobaye ou la souris. Il nous semble que les caractères de ce microbe ne témoignent pas en faveur de son rôle essentiel dans cette maladie.

Le microbe trouvé dans notre cas paraît, au contraire, jouer un rôle essentiel dans la production des symptômes morbides, et il nous explique les hémorragies par une dégénérescence spéciale des parois vasculaires. La couleur brune qui se développe dans les cultures du microbe et dans les organes des animaux qu'il ne tue pas trop vite, ainsi que l'intumescence de la rate, sont analogues à ce qu'on trouve chez l'homme. L'albuminose toxique, isolée des cultures, présente aussi cette couleur et produit des hémorragies. La fièvre élevée que l'on a observée chez l'homme et chez les animaux inoculés, de même que les propriétés saprogènes prononcées des cultures, nous expliquent la putréfaction avancée que l'on a observée à l'autopsie. Enfin, nous considérons comme un caractère important pour la valeur du microbe que nous venons de décrire, cette circonstance que nous l'avons trouvé peu de temps après la mort et exclusivement dans tous les organes examinés.

Il s'agit donc, dans notre cas, d'un bacille produisant une maladie ayant plusieurs des caractères du typhus exanthématique, mais avec certaines particularités qui en diffèrent; ce bacille présente un intérêt spécial à cause de ses propriétés biologiques, par lesquelles l'on peut s'expliquer les signes particuliers de la maladie.

Il est encore à remarquer que ce bacille a été trouvé aussi dans l'urine, les vaisseaux du rein n'étant pas déchirés, mais profondément altérés par une dégénérescence spéciale, à la suite de laquelle ils étaient incapables de mettre obstacle au passage du microbe.

Le fait est d'autant plus important, qu'il démontre qu'il existe certaines lésions bactériennes des vaisseaux ayant pour effet de les rendre plus perméables aux microbes, ce qui jusqu'à présent n'a pas été mis en évidence d'une manière certaine pour d'autres maladies infectieuses.

Nous avons eu encore une fois l'occasion d'observer à Bucharest un cas semblable, mais dont il nous a été impossible de poursuivre l'étude: il est donc permis d'admettre que le fait auquel nous avons eu affaire n'est pas un fait unique, et s'est présenté ou se représentera.

EXPLICATION DE LA PLANCHE

Pl. VII, FIG. 1. — Glomérule du rein d'une souris morte trois jours après l'inoculation (coloration avec le Rubin de Loeffler, gross. 4,000 diam. environ). — *B*, Capsule de Bowman; — *A*, artère afférente à paroi hyaline et remplie de microbes, ses anses hyalines contiennent des microbes; — *e*, vaisseau capillaire interstitiel; — *t*, canalicule urinaire; — *cy*, cylindre hyalin dans un canalicule.

FIG. 2, 3, 4. — Formes diverses de la bactéries.

FIG. 5. — Coupe du foie d'un pigeon mort après l'inoculation du microbe dans un muscle pectoral (coloration par le Rubin de Loeffler, gross. 200 diam. environ).

Dans ce lobule on voit une partie plus pâle (*r p*), dont une partie des vaisseaux est remplie de microbes. La paroi de ces vaisseaux est en partie plus large, plus uniforme et mieux colorée (*h*). De même quelques groupes de cellules hépatiques du voisinage sont devenues plus uniformes et se colorent mieux.

Le foyer modifié présente un aspect vacuolaire causé par les vaisseaux dilatés, tandis que le réseau des cellules hépatiques est devenu pâle et qu'on y distingue plus les contours des cellules. Autour du foyer mortifié, les cellules hépatiques, quoique pâles, sont reconnaissables, le protoplasma est envahi par des gouttelettes de graine X. Par place on y voit des capillaires intralobutaires dilatés et remplis de fragments cellulaires *v*. Un autre groupe de vaisseaux remplis de microbes (*z*) est entouré de tissu hépatique moins modifié. En *t*, on voit un tissu hépatique presque normal avec des noyaux en voie de prolifération.

SUR LES FERMENTATIONS PRODUITES PAR UN MICROBE ANAÉROBIE DE L'EAU

PAR M. L. PERDRIX.

En 1861, la notion de vie anaérobie a été introduite dans la science par les travaux de M. Pasteur sur le vibrion butyrique¹; ce ferment a été le premier connu des êtres vivant sans oxygène libre.

Depuis cette époque, on a constaté que beaucoup d'autres microbes peuvent se développer sans air; mais, en général, leur physiologie intime n'a pas été étudiée. Il est cependant possible de le faire pour certains d'entre eux, ceux qui, par exemple, dégagent des gaz, comme le vibrion butyrique.

Si l'on constate, ainsi que l'a fait M. Pasteur, des variations dans la composition des mélanges gazeux, on peut penser avec lui² qu'elles correspondent à des changements dans les transformations chimiques qui se produisent.

J'ai étudié à ce point de vue un bacille constamment présent dans les eaux des conduites de Paris.

J'indiquerai d'abord comment on peut l'obtenir à l'état de pureté; j'exposerai ensuite sa morphologie et la nature des produits auxquels il donne naissance, lorsqu'il se développe aux dépens de différentes substances, telles que les sucres et la matière amylacée.

1. PASTEUR, Animalcules infusoires vivant sans gaz oxygène libre, et déterminant des fermentations (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, tome LII, page 344).

2. PASTEUR, *Études sur la bière*, chapitre vi, page 297.

I. — SÉPARATION ET PURIFICATION DU BACILLE

Un milieu nutritif stérilisé, ensemencé avec quelques gouttes d'eau des conduites de Paris¹, se peuple rapidement d'une foule de microbes divers, microcoques, bâtonnets, etc. Au bout de quelques jours, les aérobies ont absorbé tout l'oxygène du liquide et empêchent l'accès de l'air ; les anaérobies commencent alors à pulluler et à produire des fermentations, avec dégagement de gaz.

Pour obtenir le bacille cherché, je me sers de la pomme de terre comme milieu de culture, et je fais le vide dans les vases employés, afin d'éliminer dès l'origine les microbes uniquement aérobies.

Dans des tubes à essai ordinaires, mais à parois assez résistantes, j'introduis de petits morceaux de pommes de terre jusqu'à la hauteur de 2 à 3 centimètres, et j'ajoute une quantité d'eau suffisante pour les recouvrir. Après avoir fermé l'extrémité par un tampon de coton, je stérilise le tout à l'autoclave à 115°.

Lorsque ces tubes sont refroidis, j'y sème quelques gouttes d'eau des conduites de Paris, ou mieux un peu du dépôt laissé par ces eaux sur une bougie Chamberland ayant servi à la filtration pendant plusieurs jours. Chacun d'eux est ensuite étiré au chalumeau dans sa partie centrale ; après avoir enfoncé le coton et étiré une seconde fois au-dessus, je fais le vide avec la pompe à mercure. Je ferme ensuite à la lampe la partie étranglée et je place ces tubes à l'étuve.

Le lendemain de l'ensemencement, de nombreux microbes se sont déjà développés ; mais, si l'on attend quelques jours, on constate un fort dégagement de gaz, et la pression dans l'intérieur du tube devient considérable.

J'introduis par aspiration dans une effilure stérilisée quelques gouttes d'une culture de huit à dix jours environ, et je les maintiens ensuite pendant 10 minutes à 78°-80°. Le liquide ainsi chauffé est ensemencé dans des tubes à pommes de terre, où le bacille se développe à nouveau.

1. Les expériences ont été faites : 1^o avec l'eau de Seine prise au laboratoire de l'Ecole normale supérieure; 2^o avec l'eau de Vanne, prise aux robinets de l'Institut Pasteur, rue Dutot, 25.

Ce procédé élimine les microcoques et une partie des bacilles de l'eau ; mais il laisse dans les cultures toutes les spores qui résistent 10 minutes à la température de 80°.

Séparation des colonies. — Reste maintenant à obtenir des colonies séparées, provenant d'une seule cellule. Pour cela, j'emploie les tubes à cultures sur pommes de terre imaginés par M. Roux¹, qui peuvent être stérilisés d'une façon certaine à l'autoclave. Lorsqu'ils sont refroidis, je prends, avec un fil de platine stérilisé, une trace de la culture précédente, et je la sème en lignes sur une série de pommes de terre. Après avoir fait le vide dans les tubes, je les ferme à la lampe et les mets à l'étuve.

Colonies sur pommes de terre. — Au bout de quelques jours, si la quantité de semence n'a pas été trop considérable, on aperçoit sur les tranches de pommes de terre des taches séparées. Les colonies du bacille cherché sont d'abord un peu blanches ; elles s'élargissent en s'agrandissant circulairement et forment de petits mamelons, autour desquels le substratum est un peu creusé. En même temps, la pomme de terre paraît partiellement liquéfiée, et le liquide qui s'en écoule se rassemble à la partie inférieure.

Quand on ouvre les tubes de culture, il y a explosion, et, par suite de la diminution de pression, toutes les colonies abandonnent le gaz qu'elles renferment : sur chacune d'elles, il se forme de petits cratères laissant échapper des bulles.

Si l'on a le soin de choisir un tube contenant une ou deux colonies et de prendre dans l'une d'elles une trace de semence, on est à peu près sûr d'obtenir une masse de microbes provenant originairement d'un bacille unique.

La certitude n'est pas complète ; car il pourrait se faire que la colonie fût due à un paquet formé de plusieurs germes agglutinés. Pour être certain de la pureté, il est prudent de faire une séparation nouvelle, en se servant d'un milieu de culture moins favorable que la pomme de terre.

Colonies dans la gélatine. — La gélatine nutritive ordinaire réalise cette condition ; même en employant beaucoup de semence, il ne s'y développe jamais que peu de colonies.

Avec une petite quantité de substance empruntée à une colo-

1. E. Roux, *Annales de l'Institut Pasteur*, tome II, 1888, page 28.

nie sur pomme de terre, j'ensemence un tube en profondeur, et, quand le développement est commencé, j'introduis une goutte de cette nouvelle culture dans quelques centimètres cubes d'eau stérilisée.

On ne peut songer à opérer à l'aide de plaques, le bacille cherché étant anaérobiose. J'ai employé le procédé suivant :

Un tube de gélatine est liquéfié par la chaleur ; il est maintenu dans un bain-marie à la température de 30 à 33°, et ensemencé avec quelques gouttes de la dilution précédente.

J'y fais passer avec pureté un courant d'hydrogène pendant deux à trois heures environ, afin d'enlever par diffusion l'air contenu dans le milieu gélatiné.

J'emploie alors des tubes de verre effilés, fermés par un tampon de coton ; ils ne diffèrent de ceux qui servent ordinairement dans les laboratoires que par l'effilure, dont la longueur est de 15 centimètres et le diamètre d'un millimètre environ.

Par aspiration, et sans arrêter le courant d'hydrogène, je les remplis de gélatine ensemencée, et je les ferme aussitôt à la lampe à l'extrémité inférieure et à la partie supérieure, de façon à emprisonner complètement le milieu nutritif.

Ces tubes sont maintenus verticalement pendant quelques instants, afin de permettre aux petites bulles d'hydrogène qu'ils contiennent de se rassembler à la partie supérieure. Puis, quand la masse est devenue bien homogène, je les place horizontalement et je laisse la solidification s'effectuer.

Ce procédé simple et rapide peut servir à la séparation des microbes anaérobies qui donnent des colonies dans la gélatine. Il se rapproche beaucoup de ceux qui ont été indiqués par M. Salomonsen¹ et par M. Vignal².

Au bout de cinq à six jours, on aperçoit, en certains points des tubes effilés, de petites taches blanches, distinctes, donnant lieu à un dégagement de gaz ; autour de chacune d'elles apparaissent des bulles qui disloquent la masse sans la liquéfier.

J'ai toujours choisi les tubes qui ne renfermaient qu'une colonie pour prendre la semence pure de mon bacille, que j'appellerai *bacille amylozyme*, à cause de la propriété qu'il possède de faire fermenter l'amidon.

1. J. SALOMONSEN, *Technique élémentaire de bactériologie*.

2. W. VIGNAL, *Annales de l'Institut Pasteur*, tome I, 1887, page 338.

II. — MORPHOLOGIE ET PHYSIOLOGIE GÉNÉRALE DU BACILLE AMYLOZYME.

Le bacille amylozyme, sur la pomme de terre et dans les milieux ordinaires de culture, est mobile, et a environ 2 à 3 μ de longueur et 0 μ .5 de largeur ; il est arrondi à ses extrémités. Il se réunit par couples ou par chaînes, dont les mouvements sont d'autant plus lents qu'elles sont plus longues.

Cette mobilité est diminuée et même arrêtée complètement par la présence de l'oxygène de l'air, comme pour le vibrio butyrique de M. Pasteur.

Ce bâtonnet se colore facilement, mais il n'est pas nécessaire de le colorer pour y voir les spores, qui ont leurs caractères ordinaires, et finissent par se mettre en liberté, par résorption du filament qui les contenait.

Physiologie générale. — L'amylozyme, dans aucun milieu, même dans ceux qui lui conviennent le mieux, ne peut pousser à l'air ; dans le vide, au contraire, il est facile d'obtenir un développement ; il en est de même dans l'hydrogène, l'azote ou l'acide carbonique : je n'ai jamais constaté que la présence ou la nature du gaz ait une influence quelconque sur la vie du bacille.

Bien qu'il soit anaérobie, il est possible de le faire pousser à l'air en ensemençant, dans la profondeur du liquide sur lequel on opère, une quantité notable de culture fraîche ; les gaz dégagés forment une atmosphère dépourvue d'oxygène, et la fermentation devient bientôt générale.

On peut encore la faciliter, si l'on veut employer de grandes quantités de substance, en mettant une mince couche d'huile dans le ballon, et stérilisant le tout ensemble à l'autoclave.

Conditions de température. — La température la plus favorable pour obtenir une culture rapide est de 35° environ.

De 20 à 25°, l'amylozyme pousse encore très bien ; seulement, la fermentation ne débute pas aussi tôt, et elle est plus lente.

Vers 16 ou 17°, il n'y a aucun développement le deuxième jour ; le troisième, quelques bulles de gaz apparaissent, et le quatrième, la fermentation est manifeste ; elle s'arrête au bout d'une quinzaine de jours. En somme, pour qu'elle se produise

dans de bonnes conditions, la température ne doit pas être trop basse.

Elle ne doit pas non plus être trop élevée : des tubes placés à 50°, 45°, 44° n'ont pas poussé. A 42°-43°, il y a toujours fermentation.

Dans ces conditions limites, le bacille donne des spores comme à 35° : il se trouve cependant dans de mauvaises conditions de vie ; car, si l'on ensemence quelques gouttes de cette première culture dans de nouveaux tubes à la même température, ceux-ci restent généralement stériles. Mais la spore n'est pas tuée, car des tubes restés sans culture pendant dix jours à 50°, et remis ensuite à l'étuve à 35°, ont poussé aussi rapidement que d'autres nouvellement ensemencés.

Les spores résistent dix minutes à 80°. Cette propriété a d'ailleurs été employée, comme on l'a vu plus haut, pour le séparer partiellement des microbes de l'eau moins résistants que lui.

Durée de conservation des spores. — L'amylozyme garde très longtemps la faculté de se reproduire : des germes conservés pendant cinq à six mois dans une culture sur pommes de terre peuvent se développer à nouveau, bien qu'avec un peu de retard. Il serait difficile de dépasser ce terme avec les cultures ordinaires, qui sont toujours légèrement acides.

Dans un milieu neutre, au contraire, la durée de conservation est beaucoup plus considérable : j'ai trouvé des germes pouvant donner naissance à de nouvelles cultures au bout de dix-huit mois.

Milieux de culture. — Le bacille amylozyme se développe bien dans les liquides ordinairement employés en microbiologie, par exemple, dans le bouillon de veau acide ou neutralisé ; mais les cultures s'arrêtent assez rapidement : elles durent deux ou trois jours à 35°.

Il fait fermenter les sucres, agit énergiquement sur la matière amylacée, mais n'a pas d'action sur la cellulose et sur le lactate de chaux.

Ces propriétés le différencient de l'amylobacter de M. Van Tieghem et du vibrion butyrique de M. Pasteur.

Influence générale de l'acidité et de l'alcalinité. — Avant d'étudier les fermentations produites par l'amylozyme, j'insisterai encore

sur un point spécial de sa physiologie générale : sa sensibilité aux acides et aux alcalis.

Si l'on détermine la réaction des milieux dans lesquels il a poussé, on constate que, malgré la diversité des substances employées, on obtient un résultat constant : la culture s'arrête toujours quand l'acidité du liquide atteint un taux déterminé : 0^{gr},10 à 0^{gr},12 pour 100^{cc} (évalué en acide sulfurique).

Or, je montrerai plus loin que ce bacille transforme en acides les sucres et l'amidon : on ne pourra donc avoir de fermentation complète qu'en empêchant cette acidité limite d'exister. Il suffira pour cela d'ajouter du carbonate de chaux dans les vases, de façon à neutraliser à chaque instant les acides formés.

Par comparaison, j'ai déterminé quelle était l'acidité nécessaire pour empêcher le commencement du développement de l'amylozyme sur la pomme de terre.

Plusieurs séries d'expériences m'ont donné le même résultat : toutes les fois que l'acide sulfurique ne dépassait pas 0^{gr},055 pour 100^{cc}, le bacille s'est développé. Au delà de cette limite, je n'ai jamais obtenu de culture.

Ce chiffre 0,055 est notablement inférieur à 0,11, qui correspond aux cultures terminées. Nous retrouvons ainsi un fait d'ordre général, souvent constaté pour les antiseptiques : l'acidité qui peut empêcher un commencement de développement est impuissante à arrêter une fermentation en activité.

Les milieux trop alcalins ne conviennent pas non plus à l'amylozyme : il ne se développe pas quand la dose initiale de potasse atteint 0^{gr},08 0/0.

Dans ces liqueurs alcalines, l'acide formé ne tarde pas à saturer la potasse ; la culture s'arrête encore quand l'acidité atteint la limite ci-dessus indiquée : 0^{gr},11 0/0.

III. — FERMENTATION DES SUCRES.

Je ne me suis occupé jusqu'ici que des conditions de la vie du bacille amylozyme et des milieux qui lui conviennent.

J'étudierai maintenant les transformations chimiques aux-quelles il donne naissance, en commençant par les sucres, mieux définis chimiquement et d'une composition moins complexe que la pomme de terre.

Dégagement de gaz. — D'une façon générale, la fermentation des sucres donne lieu à un dégagement considérable de gaz. Le mélange gazeux ainsi obtenu est constamment formé : d'acide carbonique, absorbable par la potasse ; et d'hydrogène, complètement transformé en vapeur d'eau, quand on le chauffe dans une cloche courbe avec du chromate de plomb.

Mais, comme dans les expériences de M. Pasteur sur la fermentation butyrique, si la nature des gaz dégagés reste constante, il n'en est pas de même de la proportion dans laquelle ils entrent dans le mélange : celle-ci varie avec les différents sucres qui servent d'aliment au microbe, et, pour le même milieu, avec l'âge de la culture.

En même temps, les sucres sont transformés en acides butyrique et acétique ; et ce mélange est variable également aux différents moments du développement du bacille.

Y a-t-il une relation entre la composition des gaz dégagés et celle des acides formés ? Que donne l'étude comparative des variations de ces mélanges (gaz et acides) ?

Les cultures étant faites avec addition de carbonate de chaux, il est prudent, si l'on opère en vases clos, d'employer de grands ballons ne contenant que peu de liquide, afin d'éviter les explosions. Ceux qui m'ont servi, d'une capacité de 300^{cc} environ, ne renfermaient jamais plus de 50^{cc} de liquide ; quelques-uns cependant ont éclaté par suite de la pression des gaz dégagés.

Mode opératoire. — Pour opérer sur de plus grandes quantités de sucre, et surtout pour suivre les fermentations de jour en jour, en recueillant à chaque instant les gaz formés, j'ai employé le dispositif suivant :

Je prends un ballon à fond plat de 1 litre 1/2 , fermé par un bouchon à deux trous. Le premier laisse passer un tube recourbé horizontalement et descendant jusqu'à la partie inférieure du vase ; il renferme un tampon de coton. L'autre contient un tube court, traversant simplement le bouchon, et contenant également un peu de coton.

J'y introduis environ 3/4 de litre de bouillon sucré, avec un peu de carbonate de chaux pulvérulent ; je stérilise le tout à l'autoclave à 115° pendant 10 minutes et je laisse refroidir.

Mais une masse aussi considérable conserve longtemps sa température ; et, si la pression diminue trop rapidement, surtout

en présence du carbonate de chaux pulvérulent, le liquide peut bouillir à nouveau avec soubresauts et faire sauter le bouchon.

Il est facile d'éviter cet accident en comprimant un peu d'air dans l'autoclave, à mesure que la température baisse, de façon à le laisser refroidir sous pression.

Pour ensemencer ce ballon, j'enlève le coton du petit tube, et j'y introduis, avec les précautions ordinaires, une goutte d'une culture jeune. Je remets le coton, et, à l'aide d'un caoutchouc bien serré, j'adapte un tube de dégagement ordinaire, destiné à recueillir les gaz sur le mercure.

Par le tube recourbé, je fais passer ensuite un courant lent mais prolongé d'azote, pour enlever par diffusion l'air du ballon et du liquide de culture.

On le met alors à l'étuve avec la cuvette de mercure; pendant deux à trois heures, il se dégage des bulles provenant de la dilatation du gaz du ballon. Mais l'équilibre s'établit et l'on abandonne l'appareil à lui-même.

Il est important, pour obtenir des résultats bien comparables, d'opérer avec des cellules provenant d'une colonie unique; mais de plus, suivant l'âge des semences employées, on peut avoir des différences très marquées dans le commencement du développement. Quand je faisais des expériences comparatives, la semence était préparée de la façon suivante: une trace d'une colonie sur gélatine était introduite dans un tube à pommes de terre. J'y faisais le vide : le lendemain, il était en pleine fermentation. J'ensemencais alors dans chacun des grands ballons une goutte de cette première culture; en les mettant à l'étuve en même temps, j'obtenais des fermentations donnant aux mêmes moments des gaz semblables en quantité et en qualité.

Je vais exposer avec détails les résultats que j'ai obtenus par la culture de l'amylozyme sur le glucose.

Fermentation du glucose. — Quatre ballons contenant chacun 850^{cc} de bouillon de veau, additionné de glucose (1^{gr}, 95 pour 100^{cc}), et 10 grammes de carbonate de chaux pulvérulent, sont mis en fermentation par le procédé ci-dessus indiqué.

Vingt-quatre heures après l'ensemencement, il y a dans tous un commencement de culture qui se manifeste par une mousse légère, en certains points de la surface libre.

Voici les proportions des gaz correspondant aux deux derniers ballons pour lesquels la marche de la fermentation a été la même :

	VOLUMES DES GAZ DÉGAGÉS.		RAPPORTS $\frac{H}{CO_2}$	ACIDE CARBONIQUE provenant de la décomposi- tion du carbonate de chaux.
	Hydrogène.	Acide carbonique.		
	—	—		
36 heures après l'ensemencement	1.200 ^{cc}	510 ^{cc}	70/30	420 ^{cc}
48 heures après l'ensemencement.....	2.640 ^{cc}	1.480 ^{cc}	64/36	365 ^{cc}
3 jours après l'ensemencement	3.650 ^{cc}	2.410 ^{cc}	60/40	623 ^{cc}
9 jours après l'ensemencement (fermentation achevée)	5.340 ^{cc}	4.080 ^{cc}	56/44	1.010 ^{cc}

Ce tableau montre que le rapport de l'hydrogène à l'acide carbonique va constamment en diminuant : au commencement, il est de 7/3 ; à la fin de l'expérience, les volumes des gaz dégagés sont sensiblement égaux.

Si l'on détermine en même temps les acides contenus dans les cultures depuis le premier essai jusqu'à la fin de la fermentation, on constate que la proportion d'acide butyrique va constamment en augmentant. Ce résultat s'explique : *a priori*, il doit y avoir d'autant plus d'acide carbonique mis en liberté que l'acide moins oxydé se produit plus abondamment.

Mais, il est utile de préciser les faits et de voir si, à l'aide des chiffres donnés par l'expérience, on peut obtenir une formule rationnelle représentant la transformation effectuée.

Détermination de la formule de la fermentation. — Examinons le ballon dans lequel la fermentation a été complète : il contenait, à l'origine, 16^{gr}, 6 de glucose.

Le neuvième jour, le dégagement de gaz étant complètement arrêté depuis 48 heures, la culture est filtrée.

Le liquide est un peu acide : pour arriver à la neutralisation, il faut ajouter 75^{cc} d'eau de chaux. Tout est maintenant à

l'état de sel de chaux, on constate qu'il ne reste plus de sucre, qu'il n'y a pas d'alcool, et que la quantité de chaux tenue en solution correspond à 5^{gr},086 d'acide sulfurique.

Cette acidité correspond à 1¹,175 d'acide carbonique dégagé.

Mais, si l'on tient compte des 75^{cc} d'eau de chaux à ajouter pour neutraliser les acides libres, il reste seulement 1¹,010 pour l'acide carbonique extrait du carbonate de chaux.

Le liquide précédent est concentré par distillation dans le vide, et le résidu évaporé dans un dessiccateur à acide sulfurique. On met en suspension dans l'éther une partie de la poudre obtenue, et on ajoute ce qu'il faut d'acide sulfurique pour mettre l'acide en liberté, on épouse par l'éther, qu'on sature par la chaux et qu'on distille. On obtient ainsi le sel de chaux pur.

Composition des acides. — Pour en faire l'analyse, j'emploie la méthode donnée par M. Duclaux¹ pour la détermination des acides gras volatils.

J'en dissois 2 à 3 grammes dans 100^{cc} d'eau, et j'y ajoute un peu d'acide sulfurique. Ce mélange, étendu à 110^{cc}, est distillé, et les portions condensées fractionnées en dix prises successives de 10^{cc} chacune, dont on détermine l'acidité avec de l'eau de chaux.

Les résultats moyens de trois expériences sont inscrits dans le tableau suivant :

	ACIDITÉS à l'eau DE CHAUX	SOMMES PARTIELLES	α	A	$\frac{b}{a}$
1.....	20,3	20,3	15,2	15,2	3,2
2.....	47,8	38,4	13,4	28,6	2,68
3.....	46,2	54,3	42,2	40,8	2,60
4	43,4	69,4	11,3	52,1	2,54
5.....	43,6	83,0	10,3	62,4	2,62
6.....	42,1	93,1	9,1	71,5	2,62
7.....	40,8	103,9	8,1	79,6	2,71
8.....	9,7	445,6	7,3	86,9	2,67
9.....	8,8	424,4	6,6	93,5	2,6
10.....	8,6	433,0	6,5	100,0	"

1. DUCLAUX, Sur les forces élastiques des vapeurs émises par les mélanges de deux liquides. *Annales de chimie et physique*, 5^e série, t. XIV, 1878.

DUCLAUX, Sur un nouveau moyen d'éprouver la pureté des corps volatils. *Annales de chimie et physique*, 6^e série, t. VIII, page 542.

Pour comparer ces chiffres à ceux donnés par M. Duclaux, modifions-les dans un rapport tel que l'acidité totale pour les dix prises soit égale à 100. Pour cela, il suffit de diviser chacun d'eux par 1,33 : la colonne « indique les nombres ainsi modifiés. On remarque immédiatement qu'ils vont en diminuant, comme pour l'acide butyrique.

La colonne A indique les acidités totales après chaque prise.

En comparant ces chiffres avec les nombres correspondants donnés par M. Duclaux, et en admettant que chaque acide se comporte dans le mélange comme s'il était seul, on peut calculer le rapport des équivalents d'acides butyrique et acétique contenus dans le liquide. Les différentes valeurs de ce rapport sont inscrites dans la dernière colonne ; leur moyenne est 2,6.

Les acides résultant de la fermentation renferment donc :

$$0\text{gr},72 \times 88 = 63\text{gr},3 \text{ d'acide butyrique}$$

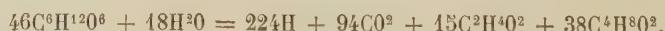
pour 0\text{gr},28 \times 60 = 16\text{gr},8 \text{ d'acide acétique},

c'est-à-dire environ 80 % d'acide butyrique.

Les poids réels des acides formés sont donc :

Acide butyrique.....	6gr,685	8gr,460.
Acide acétique	4gr,775	

L'équation suivante représente sensiblement les résultats de l'expérience :



Voici, par comparaison, les nombres calculés d'après cette formule et ceux donnés par l'expérience :

	CALCULÉ	TROUVÉ.
Sucre employé		16gr,6
Hydrogène	0gr,46	0gr,47
Acide carbonique	8gr,28	8gr,04
Acide acétique	4gr,80	4gr,775
Acide butyrique	6gr,70	6gr,685

L'équation qui représente le phénomène est assez complexe ;

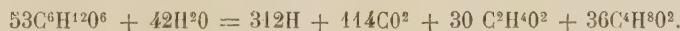
mais cette complexité disparaît quand on pénètre plus avant dans l'étude du mécanisme de cette fermentation.

L'examen attentif du tableau de la page 296 montre qu'entre le 3^e et le 9^e jour, les quantités d'acide carbonique et d'hydrogène dégagés sont approximativement les mêmes, ce qui veut dire qu'à ce moment, c'est sans doute l'équation



qui donne la loi du phénomène. Or, cette formule est celle de la fermentation butyrique typique. C'est donc pendant les 3 premiers jours seulement qu'il se forme de l'acide acétique en même temps que de l'acide butyrique. Voyons si l'expérience vérifie cette conclusion.

Pour cela, j'ai fait, sur un ballon de trois jours, comparable au premier, la même étude que pour la fermentation complète, et je suis arrivé à l'équation :



Les nombres correspondants étaient :

	CALCULÉ	TROUVÉ.
Sucre employé		9 ^{gr} ,6
Hydrogène	0 ^{gr} ,344	0 ^{gr} ,32
Acide carbonique	5 ^{gr} ,00	4 ^{gr} ,73
Acide acétique	4 ^{gr} ,80	1 ^{gr} ,77
Acide butyrique	3 ^{gr} ,48	3 ^{gr} ,17

Si nous comparons ces chiffres à ceux du tableau précédent, nous trouvons que, entre le troisième et le neuvième jour, il s'est formé, par la disparition des 7 grammes de sucre qui restent :

Hydrogène	0 ^{gr} ,45 ou 1 ^l ,690
Acide carbonique	3 ^{gr} ,31 ou 1 ^l ,670
Acide acétique	0 ^{gr} ,005
Acide butyrique	3 ^{gr} ,515

Dans cet intervalle, il n'y a plus eu production d'acide acé-

tique : il s'est formé uniquement de l'acide butyrique, et, comme nous l'avions supposé, et comme on peut le vérifier, les nombres sont d'accord avec la formule



équation de la fermentation butyrique.

L'importance de cette conclusion nous oblige à viser une objection qu'on pourrait nous faire. On pourrait dire que le dégagement gazeux s'étant fait librement dans l'expérience précédente, nous ne sommes pas sûrs que les gaz se dégagent dans la même proportion que celle dans laquelle ils sont produits, puisqu'ils sont inégalement solubles.

Pour répondre à cette objection, j'ai fait une série d'expériences dans le vide. La fermentation terminée, les gaz étaient recueillis à l'aide de la pompe à mercure.

En opérant sur le glucose, le saccharose, le lactose et le sucre obtenu par la fermentation de l'amidon à l'aide de l'amylozyme, les résultats ont été du même ordre. Je me bornerai à indiquer rapidement les chiffres correspondant à une expérience faite dans le vide avec le saccharose.

Fermentation du saccharose.— Du sucre candi blanc est dissous dans du bouillon de veau neutralisé (250 grammes de viande par litre d'eau). Je stérilise ce bouillon par filtration sur une bougie Chamberland flambée.

Un dosage à la liqueur de Fehling, après inversion, donne 4^{er},88 de sucre pour 100.

J'introduis 50^{cc} de cette dissolution dans une série de ballons à long col, contenant du carbonate de chaux, fermés par un tampon de coton et préalablement flambés.

Ces ballons, d'une capacité de 3 à 400^{cc}, sont ensemencés à la façon ordinaire ; après avoir fait le vide, je les ferme, comme je l'ai indiqué plus haut pour les tubes à pommes de terre qui m'ont servi à retirer le bacille de l'eau. Ils sont ensuite placés à l'étuve à 35°.

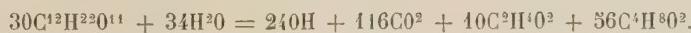
Le lendemain, la fermentation commence. J'ai comparé, pour cette étude, les ballons dans lesquels la culture s'est manifestée au même moment.

L'analyse des gaz et des acides formés m'a donné les résultats consignés dans le tableau suivant :

	VOLUME DES GAZ DÉGAGÉS		RAPPORT des VOLUMES de gaz H CO ₂ .	RAPPORT des ÉQUIVALENTS d'acides butyrique acétique.	ACIDE CARBONIQUE pro- ven- tant de la décom- position du carbonate de chaux.
	Hydro- gène.	Acide carboni- que.			
3 ^e jour après l'en- semencement ...	175 ^{cc}	95 ^{cc}	65/35	26/74	10 ^{cc}
4 ^e jour	275 ^{cc}	220 ^{cc}	55/45	60/40	73 ^{cc}
5 ^e jour.....	350 ^{cc}	310 ^{cc}	53/47	72/28	90 ^{cc}
11 ^e jour (culture ter- minée)....	670 ^{cc}	630 ^{cc}	52/48	83/15	180 ^{cc}

On voit que la proportion d'hydrogène va en augmentant dans le mélange gazeux ; il en est de même de l'acide butyrique.

De plus, l'étude successive des cultures permet d'établir les formules qui correspondent aux diverses périodes de la fermentation. Elle montre d'abord que le sucre de canne n'est pas interverti : puis, que la fermentation complète du saccharose peut être représentée par l'équation :



Voici, en effet, les nombres calculés d'après cette formule et ceux qui résultent de l'expérience :

	CALCULÉ.	TROUVÉ.
Sucre disparu		2 ^{gr} ,44
Hydrogène.....	0 ^{gr} ,0575	0 ^{gr} ,059
Acide carbonique	4 ^{gr} ,22	4 ^{gr} ,24
Acide acétique	0 ^{gr} ,442	0 ^{gr} ,442
Acide butyrique	4 ^{gr} ,472	4 ^{gr} ,480

Une fermentation arrêtée au bout de cinq jours, et en tous points comparable à la précédente, m'a conduit à la formule :



Les nombres correspondants ont été :

	CALCULÉ.	TROUVÉ.
Sucre disparu		1gr,48
Hydrogène	0gr,0304	0gr,031
Acide carbonique	0gr,591	0gr,610
Acide acétique	0gr,438	0gr,439
Acide butyrique	0gr,314	0gr,326

En comparant ces résultats à ceux qui correspondent à la fermentation complète, on peut se faire une idée de la transformation effectuée depuis le cinquième jour jusqu'à la fin de l'expérience.

On constate ainsi que la réaction, pendant cette période, est très approximativement représentée par l'équation suivante :



Voici, en effet, les nombres calculés d'après cette formule, et ceux qui résultent de la comparaison des deux tableaux précédents :

	CALCULÉ.	TROUVÉ.
Sucre disparu		1gr,26
Hydrogène	0gr,0295	0gr,0285
Acide carbonique	0gr,65	0gr,631
Acide acétique	"	0gr,003
Acide butyrique	0gr,65	0gr,634

Fermentation du lactose. — Avec le sucre de lait, on obtient des résultats semblables ; je me contenterai de les indiquer partiellement :

	RAPPORT des ACIDES FORMÉS <u>butyrique</u> <u>acétique.</u>	MÉLANGES GAZEUX <u>H</u> <u>CO₂</u>
2 ^e jour de culture.....	40/60	60/40
3 ^e —	46/54	58/42
4 ^e —	59/41	56/44
8 ^e — (fermentation achevée) ...	75/25	52/48

L'étude complète des acides produits par la fermentation du lactose m'a montré que, dans les derniers jours de la culture, il se forme uniquement de l'acide butyrique comme pour les autres sucres.

Les mêmes expériences, répétées à la température de 20°, m'ont donné des résultats analogues, à cela près que les fermentations étaient plus lentes : elles duraient de 13 à 20 jours.

Causes de la production d'acide acétique au commencement des fermentations. — Tout se passe donc comme si la transformation du sucre en acide butyrique était le but final de la fermentation par l'amylozyme : à une période assez avancée, elle s'effectue seule ; dans les premiers temps, au contraire, à cet acide s'en ajoute un autre plus oxygéné.

Quelle est la cause de cette variation ? Y aurait-il des cellules transformant les sucres uniquement en acide butyrique et d'autres plus susceptibles de donner de l'acide acétique ? J'ai cherché à éviter autant que possible cette influence de cellules différentes pouvant exister dans la semence, en prenant, comme je l'ai dit, une petite quantité d'une culture provenant d'une colonie unique.

Je crois, au contraire, que les générations successives des cellules initiales donnent des réactions chimiques différentes, parce que le milieu se modifie.

Il y a toujours, à l'origine, un peu d'oxygène dans les liquides de culture ; j'ai constaté qu'il se forme d'autant plus d'acide acé-

tique que le vide est moins complet au commencement de l'expérience.

Mais la production de cet acide est-elle due uniquement aux traces d'air qui peuvent rester dans le liquide ? Serait-il possible, en éliminant complètement l'oxygène, d'obtenir, dès le premier jour, une fermentation butyrique pure ? Il est important d'éclaircir ce point, qui se rapporte à la vie même du microbe étudié.

J'ai opéré avec les tubes à deux branches, souvent employés par M. Pasteur, qui permettent de faire deux cultures successives, sans rentrée d'air.

J'introduis dans les deux branches un bouillon stérilisé contenant du glucose avec un peu de carbonate de chaux. L'une d'elles étantensemencée, je fais le vide et je ferme à la lampe.

Dès le lendemain, à 35°, il se produit un dégagement de gaz. Je laisse l'appareil à l'étuve pendant quatre jours : à ce moment, ainsi qu'il résulte de mes expériences précédentes, il se forme uniquement de l'acide butyrique.

Si la présence de petites quantités d'oxygène était la seule cause de la formation d'acide acétique, une goutte de la première branche, introduite à ce moment dans la seconde, devrait y provoquer une fermentation butyrique pure. Je fais l'expérience de cette façon : dès le lendemain, la seconde branche fermenté, et je détermine les acides qu'elle contient après un jour de culture.

L'analyse montre que le mélange ainsi obtenu renferme encore 25 à 30 0/0 d'acide acétique. La proportion de ce corps, bien qu'elle soit inférieure à celle que l'on trouve dans les cultures ordinaires, n'est cependant pas négligeable.

Or, pendant cette période, les spores, d'abord invisibles, apparaissent peu à peu ; et au moment où il se produit de l'acide butyrique seul, elles sont parfaitement formées.

Il y a lieu de penser que les variations des acides correspondent à des modifications dans la nature des bacilles avec leur âge plus ou moins avancé.

IV. — FERMENTATION DE LA MATIÈRE AMYLACÉE.

J'ai déjà dit que le bacille amylozyme pousse très bien sur la pomme de terre stérilisée : ce procédé a même été utilisé pour l'extraire de l'eau. Il pousse de même sur tous les milieux ren-

fermant de l'amidon cuit, haricots, lentilles, riz, tapioca, grains et farines de blé, de seigle et de maïs, mie de pain. Avec l'amidon cru, la culture est beaucoup plus lente, et ne réussit que si on ajoute un peu de bouillon comme liquide nutritif.

Ces cultures s'arrêtent quand l'acidité correspond à 0^{gr}.10 d'acide sulfurique pour 100_{cc}, comme dans les milieux sucrés. L'acide formé est encore un mélange d'acides acétique et butyrique ; la proportion d'acide butyrique augmente avec le temps, et le mélange gazeux devient de plus en plus riche en acide carbonique.

Ces résultats s'expliquent par la formation d'un sucre résultant de l'hydratation de la féculle, et susceptible de fermenter, comme le glucose, avec l'amylozyme.

Grâce à la sensibilité du microbe aux acides, le sucre reste en grande partie dans les cultures où il s'est formé ; on peut constater sa présence et l'en séparer. Il n'en serait pas de même si l'on empêchait l'acidité du milieu de se produire, en ajoutant aux pommes de terre un peu de carbonate de chaux pulvérulent ; dans ces conditions, le sucre formé aux dépens de la féculle fermente au fur et à mesure de sa production ; et, l'expérience terminée, on trouve seulement un mélange d'acétate et de butyrate de chaux.

Alcool amylique. — Les cultures du bacille dans les milieux amylacés ont toujours une forte odeur d'alcool amylique et d'acide butyrique : il se produit en effet dans ces fermentations une petite quantité d'alcools éthylique et amylique.

Pour les étudier, je neutralise la liqueur en y ajoutant du carbonate de chaux et de l'eau de chaux. Je la filtre ensuite sur une bougie Chamberland, et j'obtiens un liquide jaune clair, que je distille à l'appareil Lebel.

Les produits condensés se séparent en deux couches : la portion qui surnage est peu soluble dans l'eau ; elle se dissout, si l'on ajoute de l'alcool ordinaire.

Ce mélange contient des alcools éthylique et amylique. En y ajoutant de l'eau distillée, je l'amène à marquer 5° à l'alcoomètre de Gay-Lussac : étudiée au compte-gouttes, cette dilution a donné des résultats variant entre 210 et 218 gouttes.

Si l'on compare ces chiffres à ceux qui sont indiqués dans le

mémoire de M. Duclaux¹, on trouve que la proportion est de 25 à 28 0/0 d'alcool amylique, pour 72 à 75 0/0 d'alcool ordinaire.

Le volume d'alcools formés dans ces cultures est environ de 2^{cc},3 à 2^{cc},5 pour 100 grammes de pommes de terre employées.

Sucre. — Le sucre produit par la fermentation de l'amidon est très soluble dans l'eau. Il se dissout dans l'alcool à 80°, et non dans l'alcool absolu et l'éther. Je n'ai pas pu le faire cristalliser.

Il brunit quand on le chauffe en présence des alcalis et réduit la liqueur de Fehling à l'ébullition.

C'est donc un sucre très voisin du glucose ; il n'en diffère que par son pouvoir rotatoire, qui est beaucoup plus faible.

M. Fischer² a indiqué une réaction importante des sucres : les précipités qu'ils donnent avec la phénylhydrazine. J'ai étudié à ce point de vue celui qui se forme dans mes cultures.

Pour l'avoir aussi pur que possible, j'aiensemencé le bacille, non plus sur des pommes de terre, mais dans un empois de féculle très léger.

La culture terminée, le liquide a été filtré sur une bougie Chamberland, et mélangé avec une dissolution fraîchement préparée, contenant trois parties d'acétate de soude, et deux parties de chlorhydrate de phénylhydrazine.

Le tout est maintenu pendant deux heures au bain-marie à 100°. Il se produit un abondant précipité jaune orangé, moins rouge que celui que l'on obtient dans les mêmes conditions avec le glucose.

Ce précipité est jeté sur un filtre et lavé jusqu'à ce que l'eau distillée qui le baigne s'écoule complètement incolore. Il est rassemblé dans une capsule en porcelaine et desséché à 100°.

On a ainsi une poudre à grains plus fins que ceux de la phénylglucosazone, obtenue de la même façon.

Ce corps est insoluble dans l'eau, mais se dissout très facile-

1. DUCLAUX, Sur la tension superficielle dans la série des alcools et des acides gras. *Annales de Chimie et Physique*, 5^e s., t. VII, p. 273.

2. EM. FISCHER, *Deutsche chemische Gesellschaft*, tome XVII, page 577. — *Bulletin de la Société chimique de Paris*, tome XLIII, n^o 12, page 624.

ment dans l'alcool bouillant, auquel il donne une belle coloration rouge. Il s'en précipite par refroidissement ou par addition d'eau.

Chaussé avec les alcalis, il ne produit aucune coloration. Il réduit la liqueur de Fehling à l'ébullition, en donnant un précipité d'oxyde rouge de cuivre.

L'acide chlorhydrique le dissout en produisant une belle coloration rouge ; l'acide sulfurique également.

Le protochlorure d'étain le décompose avec dégagement de gaz : le mélange prend une teinte jaune rougeâtre.

Toutes ces réactions sont semblables à celles que donne la phénylglucosazone. Une légère différence existe dans les points de fusion : ce précipité fond entre 196° et 198°, tandis que celui qui correspond au glucose fond à 205°-206°.

Le sucre formé dans les cultures d'amylozyme au détriment de la féculle est donc voisin du glucose.

Transformations de la féculle. — Que devient la féculle dans les cultures sur pommes de terre ? Quelles sont les proportions de sucre, d'alcools et d'acides formés par la décomposition d'un poids déterminé d'amidon ?

J'ai fait plusieurs fois cette étude, et j'ai trouvé des résultats peu différents d'une culture à l'autre.

J'indiquerai ci-dessous les chiffres obtenus dans une expérience faite avec des pommes de terre qui contenaient 24 0/0 de matière sèche et 18 0/0 d'amidon.

25 grammes de ces pommes de terre sont additionnés de 200° d'eau et stérilisés à l'autoclave dans un ballon à long col. Après refroidissement, je les ensemence avec un peu d'amylozyme ; j'y fais le vide et je ferme le ballon à la lampe.

Six jours après, la culture étant complètement terminée, les gaz sont recueillis avec la pompe à mercure.

Voici les résultats trouvés :

Poids de féculle mis en fermentation	0gr,48 × 25 = 4gr,5
Fécule restant à la fin de la culture.	0 gr.
Sucre	3gr,52
Hydrogène	253° ou 0gr,022
Acide carbonique	207° ou 0gr,407
Alcool éthylique	0°,44 ou 0gr,347
Alcool amylique	0°,40 ou 0gr,082
Acide acétique	0gr,08
Acide butyrique	0gr,175

Il est facile de comprendre que la formule représentant cette transformation est assez complexe. On peut cependant se faire une idée de la proportion de féculle transformée, en admettant que le carbone retrouvé dans les produits obtenus est tout entier emprunté à l'amidon.

3gr,52 de sucre correspondent à	3gr,17 de féculle
0gr,407 d'acide carbonique	0gr,23 —
0gr,347 d'alcool éthylique	0gr,41 —
0gr,082 d'alcool amylique.	0gr,12 —
0gr,08 d'acide acétique	0gr,07 —
0gr,175 d'acide butyrique.	0gr,21 —
Total	<u>4gr,23</u> —

On retrouve donc 4gr,23 de féculle employée sur 4gr,5, c'est-à-dire 94 0/0. Quant aux 6 0/0 qui manquent, on peut penser qu'ils existent à l'état de dextrine. Il y a toujours dans la liqueur, en effet, un peu de dextrine résultant de la transformation incomplète de l'amidon.

70 0/0 de la féculle sont transformés en sucre ; 11 0/0 en alcools. On pourrait donc penser que la fermentation alcoolique de ce sucre ne peut donner un rendement supérieur à 81 0/0.

Les expériences que je vais indiquer montrent cependant que l'on peut retrouver à l'état d'alcool jusqu'à 85 et 90 0/0 de la féculle employée.

Fermentation alcoolique du sucre de féculle. — Ce sucre possède, en effet, comme le glucose, la propriété de donner des fermentations alcooliques avec la levure de bière.

Je stérilise à l'autoclave une culture d'amylozyme sur pommes de terre, et, après refroidissement, j'y ajoute un peu de levure. Bientôt la fermentation commence et transforme le sucre en alcool; elle est terminée au bout de huit à dix jours.

Mais, il est inutile de détruire par la chaleur le microbe saccharisant l'amidon : il suffit d'introduire la levure de bière dans la culture à un moment quelconque.

On peut même ensemencer à l'origine un mélange d'amylozyme et de levure jeunes : tout se passe comme si chacun des microbes était seul; le bacille décompose la féculle et fournit à la levure le sucre dont elle a besoin. Leurs vies combinées transforment ainsi directement l'amidon en alcool.

Ce fait d'une symbiose de deux microbes, dont l'un, par sa

vie même, fournit à l'autre l'aliment qui lui est nécessaire, est très curieux à observer. Des expériences faites dans cet ordre d'idées permettraient certainement d'arriver à des transformations chimiques plus complètes et d'obtenir des résultats intéressants.

Dans une expérience à 35°, un kilogramme de pommes de terre a donné 109^{cc} d'alcool absolu. Dans une deuxième expérience, j'ai trouvé 110^{cc}. Dans une troisième, à la température de 20°, j'ai obtenu 105 centimètres cubes.

Ce procédé des cultures simultanées de l'amylozyme et de la levure, permet donc de retirer de la pomme de terre environ 90 % de la quantité d'alcool que pourrait fournir sa féculle.

Ce rendement est supérieur à celui qui résulterait de l'analyse (page 308). Cela tient à deux causes : 1^o dans ces conditions, il y a très peu de féculle incomplètement transformée et restant à l'état de dextrine ; 2^o la proportion d'acides acétique et butyrique formés est moins considérable.

Les grains, les farines et tous les milieux amylacés peuvent fermenter alcooliquement de la même façon. J'ai obtenu ainsi de l'alcool provenant de farines de blé, de maïs, de seigle et d'orge. La seule condition pour que la fermentation marche bien est que le milieu ne soit pas trop concentré.

Production de l'alcool amylique. — L'alcool produit par les deux microbes réunis contient de l'alcool amylique, comme tous ceux que l'on obtient avec la pomme de terre.

La présence de ce corps est-elle due uniquement à l'action de l'amylozyme sur l'amidon, ou bien le sucre de féculle, en fermentant avec la levure de bière, en donnerait-il de petites quantités ?

Pour le savoir, j'ai retiré le sucre d'une culture, et je l'ai dissous dans de l'eau de levure.

En distillant le liquide, je constatais d'abord que les portions condensées ne renfermaient aucune substance capable de faire varier les indications du compte-gouttes, c'est-à-dire marquaient exactement 100 gouttes, comme l'eau distillée.

Après l'avoir stérilisé et laissé refroidir, je semais un peu de levure pure dans le liquide ainsi préparé, et je faisais simultanément la même expérience sur le glucose.

Ces fermentations étaient abandonnées pendant quelques jours. Toutes deux m'ont donné le même résultat : en rassem-

blant par distillation l'alcool formé, et amenant les produits condensés à marquer 5° à l'alcoomètre, j'ai trouvé 129 gouttes, c'est-à-dire le nombre indiqué par M. Duclaux pour l'alcool éthylique pur.

La fermentation alcoolique du sucre de fécale par la levure ne donne donc pas d'alcool amylique : celui que l'on constate dans les fermentations de l'amidon par l'amylozyme et la levure est dû, par conséquent, à la vie du premier de ces microbes.

Alcool amylique dans les alcools industriels. — Mais alors, comment comprendre que les alcools de pommes de terre industriels contiennent de l'alcool amylique ?

On peut l'attribuer à ce que, dans l'industrie, on ne fait pas de cultures pures. L'expérience suivante le démontre :

200 grammes de pommes de terre cuites sont étendues d'eau, additionnées de 10 grammes de farine de maïs, et de 40 grammes de malt.

Je maintiens le mélange trois heures à 55°-58° ; l'amidon est alors presque complètement transformé en sucre. Le liquide est filtré, stérilisé ensuite etensemencé avec de la levure pure.

Quelques jours après, je distille la culture à l'appareil Lebel ; les portions condensées, marquant 5° à l'alcoomètre, donnent exactement 129 gouttes : il se produit donc uniquement de l'alcool éthylique.

Il en résulte que la présence d'alcool amylique dans les fermentations industrielles est due aux microbes étrangers, qui se développent concurremment avec la levure.

Or, j'ai indiqué que l'amylozyme résiste 10 jours à 50°-55°, et qu'il conserve la faculté de se développer sur l'amidon, lorsqu'on le ramène à une température convenable. On peut penser que ce bacille, et d'autres semblables existant dans l'eau, trouvent dans la fécale, qui n'est jamais complètement saccharifiée, un milieu favorable à leur vie, et peuvent se développer, grâce à l'acide carbonique dégagé par la levure.

Conclusion. — Les résultats que j'ai exposés montrent que la nature d'un microbe, son âge, les conditions de milieu dans lesquelles il se propage, peuvent apporter des changements dans le développement et les produits de la fermentation.

Celui que je viens d'étudier donne en effet des transformations assez simples dans le cas des sucres, plus compliquées avec l'amidon.

Les produits de la fermentation des sucres sont à l'origine variables et plus oxydés. Mais, l'on peut dire, d'une façon générale, que tous les sucres, après cette période de variation, se transforment en acide butyrique, avec dégagement de volumes égaux d'hydrogène et d'acide carbonique.

Les différences que l'on constate au commencement de ces cultures sont dues à deux causes : 1^o à des modifications dans la vie du microbe; 2^o à la quantité plus ou moins considérable d'oxygène libre ou dissous restant dans le milieu de culture.

La première de ces circonstances se rapporte à la vie intime du bacille ; la seconde est purement occasionnelle.

Dans un autre chapitre, j'ai montré que ce microbe transforme l'amidon en un sucre fermentescible.

Au moyen de cultures simultanées du bacille et de la levure, j'ai obtenu une fermentation alcoolique de l'amidon ; le rendement peut aller jusqu'à 90 0/0 de la quantité théorique.

Cette étude m'a conduit à penser que la présence de l'alcool amylique dans les alcools de pommes de terre et de grains fabriqués dans l'industrie tient aux impuretés des fermentations, et, en particulier, à une culture de microbes anaérobies, pour lesquels l'amidon est un aliment.

DYSENTERIE ÉPIZOOTIQUE DES POULES ET DES DINDES

PAR M. AD. LUCET, VÉTÉRINAIRE, A COURTENAY (LOIRET).

§ I

Malgré les travaux dont elle a été l'objet, la maladie des oiseaux de basse-cour connue sous le nom de *choléra des poules*, est encore, dans la pratique, fréquemment confondue avec d'autres affections virulentes qui lui ressemblent par quelques-uns de leurs symptômes, sévissent, comme elle, sur tout ou partie des oiseaux de la ferme, mais ne sont pas justiciables du même vaccin. De là, très probablement, la cause des résultats négatifs parfois obtenus dans l'emploi du vaccin du choléra des poules. La distinction de ces affections présente donc une certaine importance.

Déjà Bénion, en 1873, en se basant sur leurs symptômes, leur durée et les oiseaux atteints, sépare du choléra deux maladies: l'une, une épidémie ayant, en 1864, exclusivement sévi sur les poules et les dindes de la Haute-Vienne, et que, d'après le Dr Lemaistre¹, il décrit sous le nom de *Typhus*²; l'autre, une affection qu'il appelle *Entérite dysentérique*, et qu'il indique comme « ayant fort souvent décimé et parfois dépeuplé en partie les basses-cours d'un canton, d'un arrondissement, voire d'un département tout entier³ ».

En 1877, Mégnin⁴ signale, comme pouvant atteindre tous

1. LEMAISTRE, Épidémie (Typhus) des Gallinacés; *Recueil de Médecine vétérinaire*, 1869, page 376.

2. BÉNION, *Traité de l'élevage et des maladies des animaux et des oiseaux de basse-cour et d'agrément*, 1873, page 463.

3. BÉNION, *loc. cit.*, page 316.

4. *Maladie des oiseaux*, page 416.

les oiseaux mal entretenus, une maladie virulente qu'il sépare du choléra et qu'il nomme *Septicémie*, mais dont la description qu'il en donne se rapporte si bien à celle du typhus de Lemaistre et de Bénion, qu'elle semble en être la copie.

N'ayant d'intérêt qu'au point de vue historique, ces distinctions ont fait place depuis à d'autres plus précises, basées sur les résultats fournis par la méthode expérimentable.

Les premiers, Eberth¹ et Wolff² différencient du choléra des volailles une *affection diarrhéique des perroquets*, caractérisée par une grande faiblesse, des convulsions et la mort, et par la présence, dans le sang et les lésions des oiseaux qui succombent, d'un *microorganisme rond spécial*, affection paraissant répondre à la *Dysenterie des perroquets*, décrite par Percheron (*Le Perroquet*), Bénion et Mégnin (*l. c.*).

En 1884, Pétri observe chez des *oies*, des *canards* et des *poules*, une épidémie dans laquelle le sang des malades, qui meurent après avoir présenté du refroidissement et des convulsions, renferme le *bacille de la Septicémie expérimentale du lapin*³.

Quatre ans plus tard, Cornil et Toupet étudient, sous le nom de *choléra des canards*, une maladie sévissant sur ces pal-mipèdes au Jardin d'acclimatation, maladie non inoculable aux poules, caractérisée par de la diarrhée, des temblements et la présence, dans le sang des malades, d'un *bacille particulier*⁴.

Enfin, en 1889, Klein publie, dans le *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*, un travail sur une *Entérite infectieuse*, propre aux *poules*, non virulente pour les pigeons, et reconnaissant pour cause un microbe qu'il appelle *bacillus gallinarum*.

Voici une autre affection, infectieuse, diarrhéique, particulière aux *poules* et aux *dindes*, se rapprochant beaucoup de l'*Entérite* de Klein, dont elle diffère cependant, mais qui pourrait bien être l'une de celles décrites par Lemaistre, Bénion et Mégnin, sous les noms de *Typhus*, d'*Entérite dysentérique* et de *Septicémie*, et que, pour éviter toute confusion, j'appellerai *Dysenterie épizootique des poules et des dindes*.

1. *Virchow's Archiv*. Bd. 80, 1880.

2. *Virchow's Archiv*. Bd. 92, 1883.

3. *Centralblatt f. die med. Wissenschaft*, nov. 1884.

4. *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 1888.

§ II. — MARCHE ET SYMPTOMES DE LA MALADIE.

Assez commune dans ma région, où tous les ans, du printemps à l'automne, elle existe dans un certain nombre de fermes, la dysenterie épizootique des poules et des dindes est une maladie infectieuse, diarrhéique, respectant les canards, les oies et les pigeons, inoculable aux lapins par injection intraveineuse seulement, peu susceptible d'extension, s'éteignant ordinairement sur place, à marche relativement lente et non invariablement mortelle.

Sévissant indistinctement sur les poules de tout âge, quelle qu'en soit la race, elle frappe généralement cependant plutôt les poules de l'année, chez qui elle est plus rapidement mortelle. Il en est de même des dindes qui, toutefois, résistent mieux.

Restant habituellement localisée à la ferme qu'elle a envahie, elle s'y maintient un mois ou deux en provoquant, dans les premières semaines, une mortalité sensible qui, peu à peu, devient plus rare ; puis elle disparait après avoir détruit le quart, le tiers ou la moitié, rarement plus, de la population des poulaillers.

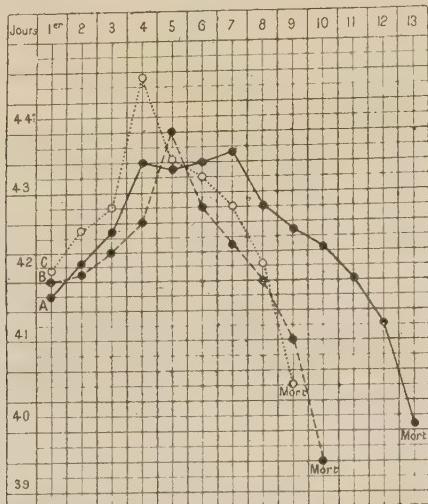
Fréquente surtout pendant l'été, elle apparaît ordinairement aux premières chaleurs, et disparait à l'automne. Jamais je ne l'ai observée pendant la saison froide,

Elle offre une période d'invasion bien caractérisée, d'une durée de trois à quatre jours, que les éleveurs eux-mêmes distinguent parfaitement, et pendant laquelle les individus atteints perdent l'appétit, recherchent les liquides, deviennent nonchalants, tristes, restent isolés, en même temps que leur crête pâlit, que leurs excréments, encore solides, prennent une teinte verte, et que leur température rectale s'élève de un ou deux degrés.

A la période d'état, il apparaît une diarrhée d'abord muqueuse, abondante, vert bleuâtre, accompagnée d'une inappétence absolue et d'une soif vive. Le dos voussé, les plumes hérissées, ternes, salies autour de l'anus par les déjections, les malades alors laissent pendre leurs ailes, bâillent fréquemment, marchent avec peine, titubent, et restent des heures entières dans la même position, immobiles, somnolentes, les paupières demi fermées, indifférentes à ce qui se passe autour d'elles.

Quatre à cinq jours plus tard, la diarrhée se montre jaunâtre, parfois rougeâtre ou striée de sang, uniquement constituée par l'exsudat intestinal ou séreux, et s'accompagne de ténesme ; la crête s'affaisse, se décolore davantage, puis revêt une teinte légèrement violacée qui s'accuse plus encore après la mort : les bâillements deviennent continuels, les extrémités se refroidissent, la somnolence augmente ; amaigris, accroupies, anéanties, la tête touchant le sol, les malades laissent échapper par le bec des matières grisâtres, gluantes, dont l'écoulement est surtout abondant quand on les suspend par les pattes, puis tombent sur le côté, se débattent quelques instants et meurent de 9 à 13 jours après l'apparition des premiers symptômes.

Du niveau élevé où elle était arrivée dans les premiers jours, la température rectale, pendant cette période, descend progressivement, lentement d'abord, puis rapidement le dernier jour, où elle est alors de 1, 2 ou 3 degrés au-dessous de la normale.



TRACÉS THERMOMÉTRIQUES OBTENUS : A, chez une poule inoculée dans le tissu conjonctif sous-cutané avec une culture à l'abri de l'air; B et C, chez deux poules toutes deux inoculées dans le tissu cellulaire sous-cutané avec une culture au contact de l'air.

Telle est, généralement, la physionomie de cette affection qui peut cependant varier dans sa manière d'être.

Quelquefois, en effet, elle est moins rapidement mortelle : la torpeur alors est coupée de temps à autre, au début de la période d'état qui se prolonge, par un réveil de quelques heures, pendant lesquelles il y a recherche des aliments ; mais la diarrhée persistant avec tous ses caractères, l'amaigrissement s'accentue, l'état cachectique s'accuse, la muqueuse buccale et les conjonctives blanchissent, la crête devient flasque, toutes les plumes se salissent et l'épuisement est extrême quand, au bout d'une vingtaine de jours, la mort survient.

Dans certains cas, sa marche est encore plus lente, et les malades, après avoir végété pendant un temps indéfini, quelquefois assez long, ou reviennent lentement à la santé, ou après avoir présenté des alternatives de mieux et de plus mal, meurent dans un brusque retour de la maladie à l'état aigu, ou de l'anémie qu'elle a provoquée.

Parfois enfin, des poules, après avoir été malades pendant huit à dix jours, retrouvent peu à peu leur gaieté et l'appétit, et la diarrhée disparaissant, se rétablissent promptement sans paraître se ressentir des atteintes du mal.

§ III. — ANATOMIE PATHOLOGIQUE.

Les lésions que l'on rencontre à l'autopsie des sujets qui succombent varient suivant la rapidité avec laquelle la maladie a évolué.

Chez les animaux morts à la période aiguë, le *sang*, incoagulé, terne, gris, contient de nombreuses petites gouttelettes graisseuses ; le *péricarde* renferme une certaine quantité de liquide séreux, grisâtre ; le *cœur*, flasque, est souvent parsemé de petites taches pétéchiales ; les *poumons*, généralement normaux, sont parfois légèrement hypérémis ; fréquemment il existe un léger épanchement abdominal, séreux, grisâtre ; le *foie*, énorme, friable, fortement coloré, laisse écouler, à l'incision, une grande quantité de sang ; la *vésicule biliaire* est généralement distendue ; la *rate*, noire, est considérablement hypertrophiée ; les *reins* sont congestionnés ; le *mésentère* présente une arborisation intense ; enfin, l'*intestin*, injecté, renfermant un abondant liquide muqueux ou séreux, jaunâtre ou verdâtre, a sa muqueuse infiltrée de nombreuses extravasations sanguines.

Quand, au contraire, les malades ont succombé à la période chronique, l'autopsie révèle, avec quelques lésions inflammatoires intestinales, le retour de la rate à son volume normal; une coloration grise particulière du foie, qui semble légèrement atrophié; une altération du sang qui apparaît grisâtre, blafard, pâle; une atrophie du cœur qui est mou, flasque, et enfin une myocardite parenchymateuse caractérisée par la présence, dans l'épaisseur du muscle cardiaque, surtout au niveau des ventricules, de points jaunâtres, fermes, pouvant atteindre les dimensions d'un petit pois rond, tranchant nettement sur le tissu environnant, rougeâtre, et situés profondément ou superficiellement, mais alors en saillie.

L'examen microscopique de la diarrhée et des épanchements péricardique et abdominal les montre constitués : la première, par un liquide muqueux, gluant, filant ou séreux, contenant des globules sanguins normaux ou déformés, des cellules épithéliales desquamées, des leucocytes, et un nombre considérable de bactéries sur lesquelles je reviendrai plus loin; les seconds, par un liquide plus fluide, dans lequel nagent quelques cellules épithéliales détachées de la séreuse, isolées ou en plaques, des éléments lymphatiques et des bactéries abondantes.

L'étude histologique des lésions aiguës, pratiquée sur des coupes minces prélevées après durcissement par l'alcool absolu, colorées au picrocarmate d'ammoniaque et montées dans la glycérine, fait voir :

Dans les reins, les capillaires distendus, les glomérules ecchymosés et quelques hémorragies interstitielles;

Dans la rate, des foyers hémorragiques, nombreux surtout près de la capsule fibreuse, et masquant le tissu propre de la glande;

Dans le foie, les capillaires, remplis de globules sanguins, énormes, variqueux, repoussant les cellules hépatiques qui, là, sont atrophiées et granuleuses; et les veines centrales de quelques îlots, entourées d'une zone de tissu conjonctif de nouvelle formation dans laquelle existent des cellules connectives abondantes (Pl. VIII, fig. 4);

Dans l'intestin, dont les capillaires turgides, vus en plan dans la muqueuse détachée, colorée et montée dans le baume, donnent

l'aspect d'une magnifique injection naturelle (fig. 2); l'épithélium disparu, le tissu conjonctif muqueux infiltré, parfois de globules sanguins extravasés, toujours de nombreuses cellules lymphatiques, abondantes également autour des vaisseaux du tissu conjonctif sous-muqueux;

Dans le cœur enfin, une dilatation des capillaires et quelques hémorragies interstitielles.

La même étude, appliquée aux lésions chroniques, montre :

Une diminution sensible des globules sanguins qui sont faiblement colorés;

Une dégénérescence granulo-grasseuse des cellules hépatiques qui, atrophiées et se colorant mal, contiennent des granulations pigmentaires et des corpuscules de graisse;

Et dans le myocarde, la présence de foyers inflammatoires constitués par des cellules lymphatiques disséminées, infiltrant et refoulant les fibres cardiaques qui ont perdu leur striation, ou réunies en amas à la place du tissu musculaire dont il existe encore quelques fibrilles atrophiées, sans caractères, noyées au milieu des éléments embryonnaires qui forment de petits abcès entourés d'une zone de tissu cardiaque moins altéré, mais hyperrémié, et dont les vaisseaux capillaires, distendus, sont nombreux et très apparents. (Fig. 1.)

Le produit du raclage de toutes ces lésions, aiguës ou chroniques, coloré sur lamelles à l'aide d'une solution hydroalcoolique de violet de gentiane ou de fuchsine, laisse voir des bactéries d'autant plus abondantes que les lésions sont plus aiguës, et qui existent également dans le sang, mais en petite quantité.

§ IV. — LA MALADIE EST VIRULENTE.

La dysenterie épizootique des poules et des dindes est *inoculable* (A) de la poule à la poule, de la poule à la dinde, de la dinde à la dinde, et réciproquement. Elle est de plus, chez ces deux espèces, *transmissible* par ingestion (B).

A

Le 22 septembre 1890, *deux poules et une dinde*, gravement malades, me sont adressées par un fermier chez qui la maladie sévit depuis quinze à dix-huit jours.

L'une des poules meurt dans la nuit du 23 au 24 septembre, et son autopsie révèle tout le cortège des lésions aiguës précédemment indiquées.

Avec toutes les précautions usitées en pareil cas, sa rate isolée, puis broyée dans vingt centimètres cubes de bouillon de veau stérilisé, sert à inoculer, le 24 septembre, à huit heures du matin :

(a) Dans le tissu conjonctif sous-cutané :

I. Une poule qui, atteinte de diarrhée le 27 septembre, meurt le 7 octobre, et dont le sang, le foie, la rate donnent des cultures sur gélatine.

II. Une poule qui se rétablit, après avoir présenté, dès le 28 septembre, de la diarrhée verte, de l'inappétence, une soif vive, la décoloration de la crête, de la somnolence, etc.

(b) Par injection intra-veineuse :

III. Une poule qui meurt dans la nuit du 26 au 27 septembre, sans avoir eu de flux diarrhéique, mais qui montre, les 25 et 26, un abattement profond, une inappétence complète et dont l'autopsie fait voir une hypertrophie du foie et de la rate. Avec ces deux organes, on obtient des cultures sur gélatine.

L'autre poule succombe le 28 septembre, à 11 heures du matin. Le même jour à 1 heure du soir :

IV. Du sang, prélevé dans le cœur, avec une pipette flambée, délayé dans cinq centimètres cubes d'eau distillée stérilisée, est inoculé dans le tissu cellulaire sous-cutané d'une poule. Celle-ci se montre, les jours suivants, triste, altérée, sans appétit, puis atteinte le 1^{er} octobre d'une légère diarrhée qui disparaît le surlendemain et est suivie d'une amélioration notable et plus tard d'une guérison complète.

V. Un morceau de foie, broyé dans 45cc d'eau stérilisée, sert à inoculer, dans le tissu conjonctif sous-cutané, une poule qui, après avoir été fort malade pendant huit jours, résiste à l'injection et se rétablit. Du sang retiré aseptiquement d'une des veines axillaires, le 3 octobre, cultive sur gélatine.

Le dinde meurt le 28 septembre.

Avec sa rate, broyée dans vingt-cinq centimètres cubes de bouillon de veau stérilisé, deux poules sont inoculées dans le tissu conjonctif sous-cutané.

Après avoir présenté toutes deux les symptômes caractéristiques de la maladie, l'une (VI) meurt au bout de douze jours; l'autre (VII), au bout de vingt-deux jours, avec, à l'autopsie, une myocardite accentuée.

Avec la rate de la poule I, une jeune dinde (VIII) est inoculée dans le tissu conjonctif sous-cutané, le 7 octobre. La diarrhée apparaît chez elle le 12 octobre et la mort survient le 22. Son sang cultive.

Le 22 octobre, une autre dinde (IX) reçoit, dans le tissu conjonctif de la région pectorale, une dilution de la pulpe de la rate de la dinde VIII. Après avoir présenté des symptômes graves pendant douze jours, elle résiste.

B

Le 24 septembre, deux poules reçoivent comme nourriture l'intestin, le foie et le cœur hachés de la poule morte ce jour et qui m'avait été remise par le fermier le 22 septembre.

L'une (X) est atteinte de diarrhée le 28 et meurt le 4 octobre. Le sang cultive ainsi que le foie.

L'autre (XI), atteinte de diarrhée le même jour, meurt le 16 octobre. A l'autopsie, myocardite. Cultures positives avec la rate.

Le 22 octobre, deux poules mangent, l'une l'intestin, l'autre le foie de la dinde VIII morte ce jour.

La première (XII) est atteinte de diarrhée le 25, et meurt le 2 novembre. Cultures positives avec le sang.

La seconde (XIII), chez qui la diarrhée apparaît le 27, succombe le 10 novembre seulement. Foie et rate, hypéremiés et hypertrophiés, donnent des cultures positives.

XIV. Le 10 novembre, une jeune dinde mange, mélangés à du son mouillé, le foie, la rate et l'intestin hachés de la poule XIII. Atteinte de diarrhée verte le 14, elle meurt le 23. Cultures positives avec le sang.

§ V. — ÉTUDE MICROBIOLOGIQUE.

Le sang, le foie, les reins, la rate, l'intestin des poules et des dindes qui succombent à la dysenterie épidotique, renferment un bacille court, de 1 μ 2 à 1 μ 8 de longueur, le plus souvent en deux articles accolés bout à bout, mais parfois isolé, animé de légers mouvement de trépidation, se laissant facilement imprégner par les solutions hydro-alcooliques de violet de gentiane, de violet de méthyl et de chlorhydrate de rosaniline, mais ne prenant ni le Gram, ni le Weigert. (Pl. VIII, fig. 3.)

En petite quantité dans le sang, moins rare dans les reins et le foie, abondant dans la rate, il est en amas prodigieux dans le mucus intestinal, où, lorsque la maladie revêt une forme franchement aiguë, il existe fréquemment à l'état de pureté absolue.

On pourrait croire que le sang, pauvre en bactéries après la mort, n'en contient pas dans le cours de l'affection. Il n'en est rien cependant. Pendant la vie, en effet, on obtient des résultats positifs, dès l'apparition de la diarrhée, par la culture de sang prélevé, avec pureté, dans l'une des veines axillaires.

A la fois aérobie et anaérobie, ne poussant pas sur pomme de terre, se développant bien dans les bouillons de veau peptonisés et alcalins, liquides ou solides, et surtout dans le bouillon de

poule naturel, neutre ou légèrement acide, où il conserve plus longtemps sa virulence, mais ne proliférant pas dans les substratums fortement acidulés par l'acide lactique, ce bacille cultive peu à la température de la chambre, lentement à 18-20°, rapidement au contraire à 37-38°, en ne changeant pas la réaction des milieux alcalins, mais en rendant alcaline celle des milieux initialement neutres ou acidulés.

Ensemencé dans une goutte de bouillon de veau suspendue en cellule humide, il se développe d'abord isolément, puis se réunit en zooglées immobiles.

Dans la gélatine, en plaques, il donne de petites colonies régulièrement circulaires, saillantes, ayant l'aspect de gouttelettes de cire, blanches, brillantes, humides, qui, plus tard, prennent en grossissant une forme convexe accentuée, leur développement ayant plutôt lieu en hauteur qu'en surface. Vues au microscope et par transparence, ces colonies, à contours nets et bien délimités, se montrent légèrement chagrinées dans leur centre qui est jaune brunâtre, tandis que leurs bords ont une couleur jaune plus claire.

Cultivé dans le même milieu, en trainée sur surface oblique, où il fournit des cultures caractéristiques, il forme une couche blanc grisâtre ou blanc sale, humide, muqueuse, à bords réguliers, ne dépassant pas les limites tracées par l'anse inoculatrice, mais s'accroissant en épaisseur jusqu'à ce que celle-ci atteigne un volume suffisant pour rompre la force adhésive qui l'unit au substratum nutritif. Coulant alors sur le plan incliné où elle repose, cette couche s'amarre au fond du tube de culture, en y formant un dépôt qui, en vieillissant, devient légèrement rougeâtre dans ses parties profondes, pendant que la surface qui la supportait n'offre plus à l'œil qu'une très mince trainée grisâtre. A aucun moment la gélatine n'est liquéfiée.

Il produit par piqûre, toujours dans la même substance, une ligne droite grisâtre, punctiforme, et, à la surface, une plaque circulaire, saillante, de même teinte ou un peu plus blanche.

Sur gélose, en surface oblique, il fournit un revêtement épais, à bords rectilignes ou très légèrement dentelés, blanc jaunâtre, muqueux : en profondeur, une ligne droite, grise, tomenteuse avec une plaque circulaire superficielle, brillante et plus blanche.

Ensemencé enfin dans du bouillon de veau ou de poule, peptonisé ou non, neutre, alcalin ou à peine acide, il y détermine un trouble accentué, suivi de la formation d'un dépôt grisâtre, pulvérulent, abondant, surmonté du bouillon redevenu limpide, mais muqueux, filant.

Dans le vide, la physionomie de toutes ces cultures reste la même; toutefois, l'aspect coulant des cultures sur gélatine tarde davantage à se manifester.

Invariable quel que soit le mode de culture employé, à l'air ou dans le vide, la durée de la virulence varie sensiblement, par contre, suivant la réaction et la nature du milieu nutritif.

Dans du bouillon de veau peptonisé et alcalin, le bacille perd assez vite ses propriétés pathogènes, même lorsqu'on a le soin de renouveler les cultures tous les trois ou quatre jours.

Incapable alors de causer la mort des poules auxquelles on l'inocule, quelle que soit la voie choisie, il détermine, dans ce cas, un malaise passager, peu intense dans les inoculations sous-cutanées, plus accentué dans les inoculations intra-veineuses, et conférant aux sujets d'expérience l'immunité contre des cultures très virulentes.

XV. — Le 10 novembre, j'inocule trois poules dans le tissu conjonctif sous-cutané, chacune avec un centimètre cube d'une sixième culture dans du bouillon de veau peptonisé et alcalin, ayant séjourné huit jours à l'étuve à 37-38°. Après avoir été tristes pendant quelques jours, elles retrouvent leur gaieté et paraissent ne rien ressentir. Réinoculées de nouveau le 30 novembre, avec une culture récente dans du bouillon de poule, elles résistent, tandis qu'une poule témoin succombe le 11 décembre, à une injection faite le même jour, sous le tissu cellulaire sous-cutané, de un centimètre cube de cette dernière culture.

XVI. — Le 21 novembre, deux poules reçoivent, dans une des veines axillaires, chacune un centimètre cube d'une huitième culture dans du bouillon de veau peptonisé et alcalin, ayant séjourné quinze jours à l'étuve à 37-38°. Très malades toutes deux les jours qui suivent, elles se rétablissent et supportent, sans inconvenients, une nouvelle inoculation, faite le 15 décembre, dans le tissu conjonctif sous-cutané, avec un centimètre cube d'une culture âgée de deux jours, dans du bouillon de poule naturel, pendant qu'une poule témoin meurt en douze jours à une inoculation semblable et égale de la même culture.

Mais, si on le cultive dans du bouillon de poule naturel,

neutre ou légèrement acide, sa virulence, qui ne s'affaiblit alors que lentement, si on laisse les cultures séjourner à l'étuve sans les rajeunir, reste intacte pendant longtemps, si on prend la précaution de faire un nouvel ensemencement, lorsque la réaction du milieu nutritif devient alcalin sous l'influence des échanges nutritifs qu'y détermine la prolifération du microorganisme.

D'un autre côté, quand son action pathogène a été atténuée, pour une cause ou une autre, il est assez facile de lui faire récupérer son intensité à l'aide de cultures en série dans les bouillons de poule, et cette influence des milieux sur la virulence permet d'expliquer certaines particularités que l'on observe dans la transmission de la maladie à l'état spontané ou expérimental.

Quant à sa vitalité, elle est assez prononcée.

Des cultures dans la gélose, la gélatine ou les bouillons, renfermées dans des pipettes capillaires, fermées à la lampe à une extrémité et bouchées à l'autre par un tampon d'ouate, ou scellées aux deux bouts, cultivent encore, en effet, après un séjour de trois mois à l'étuve à 37-38°, ou après avoir été exposées pendant le même laps de temps (27 septembre au 3 janvier), sur une fenêtre faisant face au midi, à toutes les variations atmosphériques.

Enfin, il cultive aussi après un séjour, à l'état humide, dans des pipettes closes ou non, de quinze minutes dans de l'eau à 50°, et de cinq minutes dans de l'eau à 60°. Toutefois, il est tué, dans les mêmes conditions, après vingt minutes à 50° et dix minutes à 60°.

§ VI. — VIRULENCE DES CULTURES.

Le microbe isolé est bien l'agent de la maladie :

Des cultures récentes, en effet, faites dans du bouillon de poule et entretenues en série, à l'air ou dans le vide, déterminent invariablement, quel que soit leur rang dans la série, l'élosion de la maladie chez les poules auxquelles on les inocule, soit dans le tissu conjonctif sous-cutané, soit dans le sang.

XVII. — Le 6 octobre, une poule reçoit, en inoculation sous-cutanée, un centimètre cube d'une troisième culture. Le 9, elle est atteinte de diarrhée, et meurt le 17. Son foie et sa rate, énormes, cultivent.

XVIII. — Le 25 octobre, une poule est inoculée sous la peau, avec un centimètre cube d'une huitième culture. Atteinte de diarrhée le 29, elle meurt à la période chronique le 22 novembre. Son autopsie montre de la myocardite, et sa rate cultive.

XIX. — Le même jour, j'injecte un centimètre cube de la même culture, dans une des veines axillaires d'une poule, qui meurt le 28, sans avoir présenté de flux diarrhéique. Le foie et le sang cultivent.

XX. — Le 21 novembre, une poule est inoculée dans le tissu cellulaire sous-cutané, avec un centimètre cube d'une quinzième culture. Diarrhée le 25, mort le 3 décembre. Son intestin, donné à manger à une poule, la fait mourir le 15 décembre.

§ VII. — ACTION DES CULTURES CHEZ D'AUTRES ANIMAUX.

Les cultures du bacille de la dysenterie des poules, sans action chez le pigeon (*a*) par inoculation sous-cutanée, non virulentes pour le cobaye (*b*) soit en injection sous la peau, soit en injection intra-péritonéale, et également inoffensives dans les mêmes conditions chez le lapin (*c*), tuent ce dernier animal, dans un court délai, par inoculation intra-veineuse (*d*).

(*a*) Le 19 octobre, un pigeon reçoit dans le tissu conjonctif sous-cutané, un centimètre cube d'une troisième culture dans du bouillon de poule. A aucun moment il ne paraît en souffrir. Le 21 novembre, un second pigeon est inoculé sous la peau, avec un centimètre cube d'une quatrième culture dans du bouillon de poule. Résultat négatif.

(*b*) Deux cobayes sont inoculés sous la peau, le 25 septembre, avec une culture provenant de l'une des poules atteintes de la maladie spontanée.

Le même jour, deux autres cobayes reçoivent, dans le péritoine, chacun un centimètre cube de la même culture.

Tous ces animaux restent en bonne santé.

(*c*) A la même date, quatre lapins reçoivent chacun un centimètre cube de la culture précédente, savoir : deux, dans le tissu cellulaire sous-cutané; deux, dans le péritoine. Aucun des sujets d'expérience ne succombe.

(*d*) Le même jour, j'injecte un centimètre cube de la même culture, dans une des veines de l'oreille d'un lapin. Il meurt 24 heures après, avec une hypertrophie de la rate qui est noire, et une congestion du mésentère. Son sang cultive sur gélatine.

Le 14 novembre, deux lapins sont inoculés, à 5 heures du soir, par injection intra-veineuse, avec une deuxième culture dans le bouillon de poule. Ils meurent : l'un, au bout de 25 heures; l'autre, après 28 heures. Rates hypertrophiées.

§ VIII. — DES PARTICULARITÉS OBSERVÉES DANS LA TRANSMISSION
ET LA MARCHE DE LA MALADIE EXPÉRIMENTALE OU SPONTANÉE. —
ÉTILOGIE.

J'ai indiqué, § II, qu'à l'état spontané la dysenterie épidémique des poules et des dindes peut revêtir, dans une même basse-cour, et alors qu'elle bat son plein, chez certains sujets, une forme aiguë, amenant la mort en dix à douze jours, chez d'autres, une marche chronique, à échéance mortelle plus éloignée, et que, parfois enfin, elle peut se montrer bénigne et de courte durée.

Les mêmes irrégularités se reproduisent dans son étude expérimentale, sans que l'on puisse incriminer l'atténuation du bacille qui la cause.

Ainsi, tandis que dans les expériences II, IV, V et IX, § IV, les sujets inoculés dans le tissu conjonctif sous-cutané, avec le sang, la pulpe de la rate ou du foie des poules et dindes mortes de la maladie spontanée, se rétablissent après avoir été plus ou moins gravement malades, ceux des expériences I, VI, VII et VIII, § IV, inoculés dans les mêmes conditions et avec les mêmes produits, meurent rapidement (Exp. I, VI, VII), ou lentement. (Exp. VIII.)

D'autres expériences ont donné des résultats semblables, soit avec des cultures, soit avec des produits de poules mortes de la maladie expérimentale, sans qu'il soit encore possible d'admettre une atténuation du virus.

XXI. — Le 20 novembre, deux poules reçoivent, dans le tissu conjonctif sous-cutané, chacune un centimètre cube d'une culture dans du bouillon de poule. L'une meurt le 1^{er} décembre; l'autre se rétablit après avoir été malade douze à quinze jours.

XXII. — Le 2 décembre, trois poules sont inoculées, sous la peau, avec un centimètre cube d'une culture dans du bouillon de poule, culture obtenue avec la rate de la poule ci-dessus, morte la veille. Deux meurent les 14 et 16 décembre, la troisième succombe le 27 seulement.

XXIII. — Le 14 décembre, deux poules sont inoculées, sous la peau, avec deux centimètres cubes de bouillon stérilisé dans lequel a été broyée la rate de la poule morte ce jour. L'une se rétablit après avoir été assez sérieusement malade; l'autre meurt à la période aiguë, le 28 décembre.

Ces faits négatifs ou à marche dissemblable, obtenus chez des oiseaux de même espèce, soumis à un même régime, avec des produits d'égale virulence et généralement riches en bacilles, indiquent donc d'abord qu'il existe chez la poule à l'état normal une faible réceptivité pour la maladie.

Mais il y a mieux.

L'affection, en effet, est toujours inoculée, et alors est presque toujours mortelle à bref délai, lorsqu'on fait ingérer à des poules des matières animales (intestin, foie, rate) provenant de sujets ayant succombé spontanément ou expérimentalement. C'est ce que montrent les expériences X, XI, XII, XIII, XIV auxquelles il faut ajouter les suivantes.

XXIV. — Le 1^{er} décembre, une poule mange l'intestin d'une poule morte ce jour (Exp. XXI). Atteinte de diarrhée le 6, elle meurt le 13.

XXV. — Le 28 décembre, je donne à trois poules, en mélange dans de l'avoine, l'intestin, le foie, la rate, le cœur broyés d'une poule morte le matin (Exp. XXIII). Toutes trois sont atteintes de diarrhée le 2 janvier, et meurent : l'une, le 8 janvier ; une autre, le 10 ; la troisième, le 17.

Or, il est impossible de donner la maladie par l'ingestion de cultures pures, jeunes ou vieilles, quel que soit le milieu dans lequel elles ont poussé, données soit en boissons, soit mélangées aux grains constituant la nourriture ordinaire des volailles, comme il est impossible de la communiquer par cohabitation.

XXVI. — Cinq poules ont mangé ou bu, à différentes reprises, des cultures sur milieux solides ou dans des bouillons, et ont logé, pendant un mois, dans une niche où séjournaient des malades salissant de leur diarrhée la nourriture donnée intentionnellement par terre, sans que jamais aucune d'elles n'ait présenté la moindre indisposition. Cependant, elles n'étaient pas réfractaires, car toutes ont fourni des résultats positifs dans des expériences ultérieures.

Ces données, rapprochées de l'apparition saisonnière de la dysenterie, de sa localisation habituelle à une ferme même non isolée, de sa disparition brusque, spontanée, après avoir atteint une partie seulement de la population des poulaillers (§ II), et des formes plus ou moins graves ou rapides qu'elle peut affecter suivant les sujets, m'ont conduit à supposer l'existence d'une cause détruisant ou affaiblissant l'immunité naturelle des poules

et les rendant aptes à être contaminées, cause que l'expérience suivante a mise en relief.

XXVII. — Le 27 novembre, je donne à manger à trois des poules ayant servi à l'expérience XXVI, de la viande de lapin, hachée et imbibée de trente centimètres cubes d'une culture récente dans du bouillon de poule. Le 1^{er} décembre, l'une d'elles est atteinte de diarrhée et meurt le 8. Le 3, les deux autres sont atteintes à leur tour : une succombe le 15 décembre; la troisième résiste.

Il a donc suffi, dans ce cas, d'un changement de régime, pour que la dysenterie évolue chez des sujets restés réfractaires, soit à la cohabitation, soit à l'ingestion d'aliments normaux souillés de matières virulentes; et ce fait, fort important quant à l'étiologie de la maladie spontanée, me paraît encore plus amplement démontré par les expériences ci-dessous qui, en faisant voir le peu de virulence du sang des sujets qui succombent et le profit que peut-être l'on pourrait retirer, dans le traitement préventif, de l'inoculation sous-cutanée de ce liquide aux poules encore saines de la basse-cour infectée, indiquent que la contamination s'effectue surtout et probablement exclusivement par la voie digestive.

EXPÉRIENCES. — Dans le cours de cette étude, douze poules reçurent, sous la peau, un, deux ou trois centimètres cubes de sang, dilué dans du bouillon stérilisé, et provenant de bêtes mortes de la dysenterie expérimentale ou spontanée. Toutes présentèrent les jours suivants un peu de tristesse, huit furent atteintes d'une diarrhée légère, du quatrième au sixième jour, mais aucune d'elles ne fut sérieusement malade. Réinoculées de nouveau, au bout d'un temps variable, avec des cultures très virulentes, elles résistèrent sans exception*. Elles avaient donc été vaçcinées.

Or, ce même liquide, donné en ingestion en quantité notable, a déterminé, deux fois sur cinq, des accidents mortels dans un court délai.

A l'aide de tout ce qui précède, il est facile maintenant d'établir l'*étiologie de la dysenterie épizootique des poules et des dindes* et d'expliquer son existence exclusive à l'époque des chaleurs, sa localisation à la ferme atteinte, sa disparition subite et la variété de ses manifestations.

Dans ma localité, pays de petite culture, l'élevage industriel des poules est encore presque complètement inconnu. Aussi, depuis l'époque où ils quittent leur mère, jusqu'au jour de leur engrangissement qui se fait à l'épinette, ces oiseaux, logés étroi-

tement dans des poulaillers mal construits et malpropres, ne sont-ils l'objet d'aucuns soins spéciaux. Libres dès leur réveil, ne recevant pour la journée, et encore pas toujours, qu'une petite ration de grains distribuée au hasard, et obligés de pourvoir eux-mêmes à leur nourriture, ils grattent dans les fumiers qui servent le plus souvent de lieux d'enfouissement aux animaux de petite taille mourant à la ferme et aux enveloppes foétales des femelles qui mettent bas, ou dans les cours, généralement mal entretenues et recouvertes de pailles en putréfaction mélangées à des déjections de toutes sortes, ou vagabondent et vont aux champs. N'ayant jamais enfin, à leur disposition, d'abreuvoirs alimentés d'eau propre, ils boivent l'eau des mares, des fossés, des ornières, ou les liquides excrémentiels qui s'écoulent des fumiers et des étables.

Dans ces conditions, les poules, dont on connaît la voracité, l'avidité pour toutes les matières d'origine animale, sont plutôt carnivores que granivores, surtout si la fermière ne leur distribue pas ou leur distribue parcimonieusement la petite ration de grains qui leur est fournie tous les jours, et, sous l'influence de ce changement de régime, chez elles comme chez les autres animaux domestiques, il survient une modification de la réaction du contenu intestinal qui, d'ordinaire alcaline, devient neutre ou plus ou moins acidule suivant l'abondance et la nature des matières animales ingérées.

Par cette façon d'entendre l'élevage, la fermière, inconsciemment, développe donc chez ses poules une aptitude spéciale à contracter la dysenterie, aptitude peu prononcée, on l'a vu, quand la nourriture est normale.

Le terrain étant préparé pour recevoir la graine, avec la chaleur les pluies deviennent rares, les fossés se tarissent, les mares baissent, leur contenu se montre vaseux, nauséabond, peuplé de microorganismes, les liquides provenant des fumiers ou des étables fermentent activement, et les poules, forcées de s'abreuver de ces différents liquides, ingurgitent avec eux, très probablement, le bacille de la dysenterie qui exige, pour se développer, une certaine température.

La maladie apparaît alors et dure autant que persiste cette mauvaise hygiène et que l'état atmosphérique reste le même.

Mais que la chaleur baisse, que des pluies abondantes lavent

les cours, remplissent les mares et améliorent les boissons, ou que la fermière, voyant ses poules mourir, en prenne plus de soin et les nourrisse mieux, l'épidémie disparaît.

Sa localisation, dans la généralité des cas, à la ferme envahie, s'explique par les mêmes raisons. Dépendant en effet d'une question d'alimentation et d'hygiène et ne se transmettant pas par cohabitation, au moins chez les sujets soumis à un régime normal, il est clair que la dysenterie se confinera à l'exploitation atteinte, si les poules de la basse-cour voisine sont convenablement entretenues. Par contre, elle apparaîtra dans celle-ci, transmise, ou éclosée sur place, si le régime y est défectueux.

Enfin, la rapidité de son évolution et sa gravité si différente suivant les sujets, sont la conséquence des influences qui la font naître. Exigeant pour se développer l'action d'une cause prédisposante spéciale, plus cette action sera intense chez un oiseau donné, plus faible sera la résistance opposée par l'organisme à l'envahissement microbien et plus vite les lésions évolueront.

§ IX. — DIAGNOSTIC.

Le diagnostic de cette dysenterie épidémique est facile.

Les *affections vermineuses* de l'intestin, très fréquentes chez la poule, graves, souvent enzootiques, et dont un des principaux symptômes est la diarrhée, s'en distinguent aisément par l'examen de ce produit, alors jaunâtre, fétide, et qui, au microscope, laisse voir de nombreux œufs révélant la présence des parasites.

Sa marche, tantôt aiguë, tantôt chronique ; sa terminaison, souvent mortelle, mais parfois bénigne ; sa durée, sa localisation habituelle à la ferme atteinte, et sa non-inoculabilité au lapin en injection sous-cutanée, la différencient suffisamment du *choléra des volailles*, sans qu'il soit besoin de recourir aux cultures.

Le *choléra des canards* ne peut être confondu avec elle, puisqu'il n'est pas inoculable aux poules.

La maladie observée par Petri chez des *oies*, des *canards* et des *poules*, en raison de la rapidité de son évolution, 12 à 20 heures, et de sa grande virulence pour le lapin, peut en être séparée aussi facilement.

Reste l'*entérite de Klein*¹ avec laquelle elle a un certain nombre

1. Je remercie ici M. Klein de l'envoi de son travail et de ses cultures.

de points communs que le tableau suivant met en relief, en même temps qu'il permet de porter le diagnostic différentiel.

ENTERITE DE KLEIN	DYSENTERIE ÉPIZOOTIQUE
Les poules seules sont atteintes.	Les poules et les <i>dindes</i> la contractent.
Elle est causée par un bacille abondant dans la rate, plus rare dans le sang, dont une goutte donne, à l'ensemencement sur plaques, de 50 à 200 colonies.	Elle est causée par un bacille abondant dans la rate, plus rare dans le sang, dont une goutte donne, à l'ensemencement sur plaques, de 20 à 30 colonies.
La diarrhée apparaît à la fin du 6 ^e jour après l'inoculation, et les malades meurent du 7 ^e au 8 ^e .	La diarrhée apparaît vers le 4 ^e jour après l'inoculation, et les malades meurent du 9 ^e au 13 ^e .
L'inoculation du sang est mortelle.	L'inoculation du sang est <i>bénigne</i> .
La maladie, difficilement inoculable au lapin en injection sous cutanée, non virulente pour le pigeon, est transmise chez la poule par cohabitation.	La maladie <i>non virulente</i> pour le lapin et le cobaye en injection sous-cutanée, n'est pas transmise chez la poule par <i>cohabitation</i> .
Le bacille, à la fois aérobie et anaérobie, qui ne pousse pas sur pomme de terre, fournit sur gélatine, qu'il ne liquéfie pas, une culture ferme, blanche, mince, plate, à bords irréguliers.	Le bacille, à la fois aérobie et anaérobie, qui ne pousse pas sur pomme de terre, fournit sur gélatine qu'il ne liquéfie pas, une culture molle, grise, à bords réguliers, s'accroissant en épaisseur, puis coulant sur la surface de la gélatine pour s'amasser au fond du tube de culture où elle prend en vieillissant une légère teinte rougeâtre.
Le bacille n'est pas tué après un séjour, à l'état humide, de 20° à 55°.	Le bacille est tué après un séjour, à l'état humide de 20° à 50°.
Les cultures ingérées avec les aliments ordinaires sont inoffensives.	Les cultures ingérées avec les aliments ordinaires sont inoffensives. <i>Elles sont virulentes mélangées à des matières animales et ainsi ingérées.</i>

§ X. — TRAITEMENT

La dysentérie épidémique des poules et des dindes étant la résultante d'un ensemble de causes dues à un régime défectueux, il est facile de la prévenir, ou, lorsqu'elle apparaît, d'en-

rayer sa marche, à l'aide de simples moyens prophylactiques.

Elle sera prévenue par l'installation confortable d'une basse-cour éloignée des fumiers, limitant le parcours des volailles, mais vaste, munie d'abreuvoirs entretenus propres et approvisionnés d'eau de bonne qualité journallement renouvelée, et par la distribution d'aliments sains et appropriés.

Quand, pour une raison ou une autre, la création d'une basse-cour spéciale est impossible, une nourriture végétale, composée de grains, de son, de racines cuites ou crues, d'aliments herbacés hachés, de pâtées au pain, etc... donnée, en quantité suffisante, aux poules de la ferme et complétée par la mise à leur disposition d'une eau de boisson saine, outre qu'elle empêchera, chez ces volatiles, le vagabondage, la recherche des détritus de toute nature, tempérera les effets nuisibles des aliments de mauvaise qualité qui, entre les repas, pourront être ingurgités dans le grattage des fumiers et évitera tout danger d'infection intestinale.

Le changement de régime et les mêmes soins donnés aux poules d'une exploitation atteinte, combinés, lorsque la basse-cour est close, avec la désinfection des poulaillers, des abreuvoirs, du sol et l'isolement des malades, suffiront dans la majorité des cas à arrêter la marche envahissante de l'épidémie.

Si les poules ont un parcours libre, ces moyens de désinfection, plus difficiles à appliquer, devront néanmoins être employés dans la mesure du possible.

Si, alors, ces mesures ne suffisent pas, on devra tenter la vaccination des volailles encore saines, soit à l'aide de cultures atténuées (§ V), soit plus simplement par l'inoculation sous-cutanée d'une petite quantité du sang d'un sujet venant de succomber à la maladie ou sacrifié, et préalablement dilué dans un liquide stérilisé, bouillon ou eau distillée (§ VIII).

EXPLICATION DE LA PLANCHE VIII.

FIG. 1. — V. Veinules de myocarde. — FF, fibres musculaires plus ou moins altérées. — L, leucocytes.

FIG. 2. — C, capillaires de la muqueuse intestinale. — G, glandes.

FIG. 3. — Pulpe de la rate. — H, globules du sang. — E, éléments normaux de la rate. — M, bacilles.

FIG. 4. — C, cellules du foie. — V, Veine entourée d'une zone E de leucocytes, et ayant des parois très épaisse. — V, veinule.

Grossissement commun : 60. Coloration par le carmin,

SUR LA QUESTION DE LA STRUCTURE DES BACTÉRIES

PAR M. LE DR PROTOPOPOFF.

La question de la structure intime des bactéries est à l'ordre du jour, surtout depuis que Butschli¹ a démontré que non seulement les grandes espèces telles que *Chromatium Okenii*, *Ophidomonas Jenensis*, mais encore des espèces très petites, comme *Bacterium lineola*, *Spirochæte serpens*, *Beggiatoa alba*, comprennent une couche corticale et un corps central, l'un et l'autre de structure alvéolaire, et très distincts sur des préparations coloriées à l'hématoxyline.

D'après Zacharias², le corps central ne serait qu'un noyau. D'un autre côté, Ernst³ a découvert, dans un grand nombre de micrococcus pathogènes et saprogènes, des petits corps variables de nombre, de grandeur et de disposition, et qu'il considère comme autant de noyaux. Klebs, au contraire, compare le protoplasma tout entier à la substance nucléaire, à raison de son affinité pour les matières colorantes. La question des noyaux n'est donc pas résolue et c'est ce qui me décide à publier mes recherches sur la structure de deux bactéries.

L'une a été trouvée sur une langue de vache portée en mars 1890 à l'Institut anatomo-pathologique de M. Chiari à Prague, et farcie dans toute son épaisseur de tubercules actinomycoto-

1. BUTSCHLI, Sur la structure des bactéries; Leipzig, 1890; et Nouvelles contributions à la structure des protoplasmas, *Verhand. d. Naturhist.-Med. Vereins zu Heidelberg*, N. F. IV.

2. ZACHARIAS, Contribution à la connaissance des noyaux cellulaires et des cellules sexuelles, *Bot. Zeitung*, 1887, p. 367.

3. ERNST, Sur la formation du noyau et des spores dans les bactéries. *Zeitschr. f. Hyg.*, t. V, p. 428.

tiques à tous les degrés de développement. Sur l'invitation de M. Chiari, j'en fis des cultures sur gélose, et je ne tardai pas à remarquer une bactérie dont une solution faible de fuchsine colore le protoplasma partie en rose pâle, partie en rouge foncé. Ces parties inégalement colorées forment des bandes régulières transverses au grand axe de la bactérie, et quelquefois nombreuses. La fig. *a* (Pl. VIII, au bas), en représente une présentant 13 de ces bandes : 7 colorées et 6 pâles.

Cet aspect singulier me fit craindre de suite une faute de préparation ou une influence du milieu de culture, que je m'attachai à varier le plus possible. La bactérie n'est pas cultivable sur pomme de terre. Sur la gélatine, le développement est lent, et il n'y a pas de liquéfaction. Le sérum sanguin, le bouillon faiblement alcalin et la gélose glycérinée à 2 0/0 sont les milieux les plus favorables. Or, partout, je retrouvai les mêmes phénomènes de coloration, mais ils varient avec l'âge de la culture, comme je vais l'exposer.

Au bout de 24 heures la bactérie est un petit bâtonnet ovale dont les deux pôles se colorent fortement, tandis qu'au centre on voit (Apochr. Zeiss, 1.40,2^{mm}) une bandelette mince à peine colorée. Quelques articles, deux ou trois fois plus longs que les autres, présentent la même structure. Après 72 heures, il y a encore, cela va sans dire, des bactéries de même aspect qu'après 24 heures ; mais dans beaucoup on voit juxtaposées des bandes claires et des bandes foncées, comme on le voit dans la fig. *c*. Tout ceci se produit aussi bien sur gélose que dans du bouillon, et un nouvel ensemencement fait passer la bactérie par les mêmes phases. La fig. *d* représente une distribution encore plus régulière des bandes. Pour les bien voir, il faut employer une solution faible de fuchsine ou de bleu de méthylène. La safranine donne des résultats moins nets.

Il est clair que cette bactérie a une structure stratifiée, et il m'est permis de nommer *chromatine* la partie de son protoplasma qui se colore fortement, et *achromatine* celle qui reste pâle.

Dans des cultures plus anciennes, j'ai vu que certaines bandes de chromatine étaient plus foncées que d'autres, et aussi, sur les plus grands des articles, que la raie chromatique s'arrête à distance du contour de la bactérie, tantôt d'un côté et tantôt des deux à la fois. Au bout d'un certain temps, ces raies colorées paraî-

sent se contracter, prennent la forme ronde d'un noyau, et se disposent le long de la bactérie en rangées de granulations régulières et plus ou moins égales.

La figure *e* représente l'aspect d'une culture sur gélose glycérinée, datant de 2 mois, et qui, après avoir passé par les phases que j'ai décrites, ne contenait que des bactéries se colorant en rose uniforme, avec rangées assez régulières de granulations nucléiformes fortement colorées. Seules, quelques-unes présentaient des vestiges de la structure primitive sous forme de lignes faiblement colorées. Ces granulations sont évidemment le résultat de la transformation des anciennes bandes de chromatine, et il est assez intéressant de remarquer que quelquefois (fig. *f* et *g*), la raie chromatique se segmente en son milieu, en deux corpuscules placés à côté l'un de l'autre.

Toutes ces formations correspondent précisément aux petits corps qu'Ernst a découverts à l'aide d'une double coloration, dans beaucoup de bactéries, et qu'il est porté à considérer comme analogues aux noyaux des cellules ordinaires. Il est certain que les réactions des matières colorantes plaident en faveur de cette opinion. Mais il ne faudrait pourtant pas assimiler ces corpuscules aux noyaux des éléments cellulaires ordinaires.

Les figures *g* et *h* représentent des bactéries, plus volumineuses que les autres et présentant, autant qu'on en peut juger, des formes d'involution. Ces formes anormales apparaissent dans tous les milieux de culture, et d'autant plus vite que la température est plus élevée.

La bactérie a une autre propriété qu'il est bon de signaler, c'est qu'elle ne s'étend guère en surface sur la gélose. Inoculée en un point limité, à l'aide du bout d'un fil de platine, elle donne des colonies rondes, s'élevant sous forme de bourrelets blancs ou blancs jaunâtres, à la façon de certaines levures. Une ligne tracée avec une pointe de platine à la surface de la gélose se dessine de même en un relief formé de colonies sèches, faiblement adhérentes, ne se laissant pourtant pas dissocier facilement dans l'eau, mais s'y répandant en petits nodules visibles à l'œil nu. La température optima est de 35°.

Dans le bouillon faiblement alcalin,ensemencé par la sur-

face, il se forme un voile mat qui s'étend peu à peu, et dans lequel on retrouve, à partir du troisième jour, des nodules nettement limités qui s'accroissent avec le temps et tombent au fond du vase. Ces nodules, tant ceux de la surface que ceux du fond, peuvent devenir très volumineux. Le bouillon reste toujours limpide. Quand on a fait l'ensemencement de façon à répartir la semence dans tout le liquide, c'est seulement sur le fond que le microbe se développe en petits amas.

II

J'ai retrouvé des aspects analogues à ceux que je viens de décrire sur l'*actinomyces* dont j'ai décrit, en collaboration avec le Dr Hammer, le développement sur la pomme de terre. Je voudrais compléter ici nos observations en y ajoutant ce qui se rapporte à la structure de la bactérie.

Une culture de ce champignon sur la pomme de terre, faite à l'étuve à 35°, nous a montré une production rapide de grains jaune-blanc ou grisâtres, qui, sur une culture âgée de 10 à 15 jours, se montrent formés de corpuscules ovales, tous de même grandeur, se colorant fortement dans une solution faible de fuchsine, et d'une petite quantité de filaments plus allongés, différant plus ou moins des filaments ensemencés. Il est facile de se convaincre que les corpuscules en question proviennent des filaments actinomycotiques par un ratatinement de la chromatine autour de certains centres, placés souvent à des distances égales l'une de l'autre, et donnant au filament l'aspect d'un streptococcus. On retrouve le même phénomène dans les grains d'*actinomyces* cultivés dans du bouillon, et Gasperini¹ a trouvé des aspects analogues dans les filaments du *Streptothrix Forsteri*.

D'un autre côté, ces filaments légèrement épaissis apparaissent comme formés d'une chaînette de corpuscules ovalaires de chromatine, séparés par des espaces plus clairs, comme on le voit dans les figures *j* et *i*. Sur certains filaments, les espaces

1. GASPERINI Recherches morphologiques et biologiques sur le *Streptothrix Forsteri*; Cohn, Ann. de microg.: 1890. Les deux premiers dessins de l'auteur ressemblent beaucoup à ceux que nous avons présentés, M. Hammer et moi, à la Société des médecins, à Prague, au mois d'avril 1890.

clairs se réduisent ou disparaissent, de sorte que le filament semble composé d'une chaînette continue de corpuscules colorés. Il est clair qu'il se fait un processus de concentration autour des centres, et par là encore nos observations se rapprochent de celles de Gasperini.

Tous ces phénomènes se voient très bien sur une culture sur gélose glycérinée, ensemencée avec une émulsion d'une culture sur pomme de terre, faite dans du bouillon stérilisé, à la condition de n'ensemencer la gélose qu'après avoir laissé se déposer au fond de l'émulsion les parties les plus lourdes du mélange. La portion ensemencée ne contient alors que les corpuscules ovales dont nous avons parlé. La culture est très belle au bout de 3 à 4 jours.

J'ai aussi vu se produire, sur les filaments de l'*actinomycetes* cultivés depuis 4 jours à 40°, une autre série de modifications bonnes à signaler. Sous l'influence de conditions encore mal déterminées, les corpuscules de chromatine, au lieu de se disposer parallèlement à la direction du filament, s'allongent perpendiculairement à cette direction, et lui donnent quelque chose de l'aspect d'une fibre musculaire striée, comme le montre les fig. *k* et *l*. Sur quelques-uns de ces filaments, on surprend le procès de segmentation, et deux bandes transverses de chromatine sont séparées par un espace clair plus étroit. Ernst a observé le même phénomène sur le *B. pseudosubtilis*, le *B. typhi abdominalis* et le *B. cyanogenus*, et le considérait comme un cas de segmentation transversale du noyau. J'incline pourtant à n'y voir qu'un cas de concentration irrégulière de la chromatine. Il arrive parfois que dans certains filaments on trouve à côté de l'achromatine colorée en rose pâle, et des corpuscules de chromatine teintés en rouge foncé, une partie du filament uniformément colorée en rouge foncé, avec des stries transverses régulières, tellement foncées qu'elles semblent presque noires. Il est probable que ce sont ces stries préformées qui servent de noyau de concentration à la chromatine.

J'ai eu l'honneur de présenter mes préparations à MM. Roux et Metchnikoff à Paris, et à M. Kuhne à Wiesbaden. Je remercie ici ces savants de l'intérêt qu'ils m'ont manifesté.

TRAITEMENT DU CHARBON PAR LE BICARBONATE DE SOUDE D'APRÈS LA MÉTHODE DE M. FODOR

PAR M. LE DR S. CHOR, D'ODESSA

(Travail du laboratoire de M. Metchnikoff, à l'Institut Pasteur).

Les diverses espèces et les divers individus d'une même espèce sont, comme on sait, très inégalement sensibles vis-à-vis des maladies infectieuses, et l'étude des causes de leurs degrés divers de sensibilité, et éventuellement de leur état réfractaire, a un grand intérêt, car elle promet de nous apprendre à donner artificiellement l'immunité. Parmi les tentatives faites pour expliquer l'immunité, nous ne nous occuperons ici que de celle qui invoque l'alcalinité du sang.

C'est M. Behring¹ qui lui a demandé le premier l'explication de l'état réfractaire des rats vis-à-vis du charbon. Cette alcalinité ne lui semble pas pouvoir être attribuée à la présence de bases minérales, telles que la potasse et la soude, mais plutôt à des bases organiques, de nature inconnue.

M. Fodor², qui étudie depuis longtemps les propriétés bactéricides du sang, a publié l'an dernier un travail dans lequel il envisage l'influence de divers facteurs d'ordre physique ou chimique, sur l'action bactéricide du sang pour le *bacillus anthracis*, et il conclut que cette action augmente avec l'alcalinité du sang, surtout quand cette alcalinité est produite par le bicarbonate de soude. Il se trouve ainsi tout naturellement conduit à essayer s'il ne pourrait pas donner à un animal l'immunité contre

1. *Centralbl f. klin Med.*, 1888, n° 38.

2. *Centralbl f. Bact.*, t. VII, n° 24.

le charbon au moyen du bicarbonate de soude. Voici un court résumé de ses expériences dans cette direction :

1^o Deux lapins reçoivent dans l'estomac chacun 2 grammes de bicarbonate de soude et, une demi-heure après, une inoculation de 1/3 de c. c. de culture charbonneuse. On continue ensuite à leur introduire dans l'estomac, trois fois par jour, 2 grammes de bicarbonate. L'un de ces lapins succombe le 3^e jour à un catarrhe intestinal, l'autre a survécu;

2^o De deux lapins qui reçoivent dans l'estomac, trois fois par jour, 1 gramme de bicarbonate, l'un meurt après 3 jours de catarrhe intestinal, l'autre a survécu;

3^o Cinq lapins reçoivent sous la peau des quantités variables de bicarbonate, de 0^{gr},25 à 1 gramme. Douze heures après, on leur inocule 0,5^{cc} de culture de charbon, et on continue 6 fois par jour les injections sous-cutanées. Deux succombent avec d'immenses abcès au point d'injection; deux moururent le 4^e et 5^e jour. Celui qui avait reçu 0^{gr},25 de bicarbonate a survécu;

4^o Quatre lapins reçoivent 0,5^{cc} de culture charbonneuse, et 24 heures après on commence à leur injecter, trois fois par jour, 1 gramme de bicarbonate de soude. L'un de ces lapins mourut 7 jours après, les autres survécurent;

5^o Trois lapins furent inoculés par un virus plus fort que le précédent. On commença les inoculations de bicarbonate trois jours après; tous ces lapins moururent beaucoup plus tard que les témoins;

6^o Trois lapins, inoculés avec du charbon, furent traités cinq jours après par le bicarbonate de soude, et succombèrent bien après leurs témoins.

En résumant ces essais divers, on trouve que sur 19 lapins inoculés du charbon et traités par le bicarbonate de soude, trois succombèrent au charbon, 9 à une cause indéterminée (charbon douteux), et 7 survécurent. Les lapins témoins moururent plus vite que les lapins traités.

Ces résultats étaient tellement nouveaux et semblaient si probants, le remède était si simple, que le Dr Diatropoff et moi nous entreprîmes de répéter ces expériences.

En août et septembre 1890, nous leur avons consacré, à la Station bactériologique d'Odessa, plus de 20 lapins auxquels on injectait une émulsion de bicarbonate de soude à 1/8, soit dans

l'estomac, soit sous la peau. Les uns avaient déjà subi, les autres subissaient ensuite une inoculation du second vaccin charbonneux, qui tue d'ordinaire tous nos lapins d'Odessa, à cause de leur petite taille (800 à 1,000 grammes). Enfin plusieurs de ces lapins recevaient du bicarbonate de soude sans subir l'injection charbonneuse, pendant que des témoins recevaient le charbon sans traitement au bicarbonate.

Tous ces lapins, sans exception, succombèrent, et ceux qui avaient reçu du bicarbonate avant les témoins. Tous avaient perdu de leur poids et présentaient une hyperémie des organes, notamment du foie et de la rate. On ne trouvait pas de bactéries sur les préparations faites avec les lapins qui étaient morts très vite après les injections de bicarbonate de soude, et les ensemencements ne donnaient pas de culture. Cela fait croire que c'était le bicarbonate et non le charbon qui avait tué ces lapins. Par contre on trouvait des bactéries et les ensemencements devaient féconds avec les lapins qui avaient survécu plus longtemps aux injections. Enfin, ce qui appuie l'idée de l'effet nuisible du bicarbonate de soude, c'est la mort des lapins qui en avaient reçu sans être inoculés du charbon.

D'expériences faites pour étudier l'effet curatif possible de faibles doses de bicarbonate, il résulte que ces doses ne tuent plus le lapin sain, mais sont incapables d'arrêter le développement du charbon inoculé, et accélèrent plutôt ses effets morbides.

Enfin, pour savoir s'il y a quelques modifications chez les bactéries inoculées à un animal préalablement alcalinisé, on a fait une émulsion avec la rate d'un lapin, inoculé du charbon après qu'il avait reçu des injections de bicarbonate de soude, et on a injecté cette émulsion à un autre lapin qui est mort dans les délais voulus. La virulence n'avait donc subi aucune diminution à la suite de l'alcalinisation de l'organisme.

Notre travail fut interrompu à Odessa par la maladie de l'un de nous. Je l'ai repris à Paris sur des lapins qui, en France, sont deux fois plus gros qu'à Odessa, et se montrent beaucoup moins sensibles au charbon.

Voici le compte rendu de mes expériences :

I. Le 10 janvier, trois lapins (A, 2,240 grammes; B, 4,990 grammes; C, témoin, 4,970 grammes) sont inoculés au moyen d'une culture charbonneuse asporogène dans du bouillon, et 5 heures après, on injecte à A et

à B 1 gramme de bicarbonate de soude dissous dans 8^{cc} d'eau. À partir du lendemain, A et B reçoivent 3 fois par jour une injection pareille. — A meurt le 12 janvier à 2 heures, ayant perdu 360 grammes de son poids, et avec un fort œdème au point d'inoculation et des bactéridies dans tous les organes. L'ensemencement du sang sur gélose se montre fécond. — B meurt le 13 à 5 heures du soir, après avoir perdu 245 grammes; mêmes constatations que sur A: — Le lapin témoin succombe le même jour à 7 heures du soir.

II. Le 14 janvier, trois lapins (A, 2,083 grammes; B, 1975) reçoivent comme les précédents une injection de 1 gramme de bicarbonate de soude. Le lendemain, on leur inocule, ainsi qu'à un lapin témoin (C, 2,225 grammes) 0,5^{cc} d'une culture charbonneuse asporogène. Dès lors, A et B reçoivent trois fois par jour une injection de 1 gramme de bicarbonate. — A succombe dans la nuit du 16 au 17 janvier, ayant perdu 255 grammes. Bactéridies dans les organes; ensemencements féconds. — B meurt le 17 janvier à 4 heures du soir, avec une augmentation de poids de 100 grammes. Très peu de bactéridies dans les organes et le sang; ensemencements féconds. — Le témoin mourut du charbon le 19 janvier, à 9 heures du matin, après avoir perdu 195 grammes.

III. Le 10 février, trois lapins (A, 1,720 grammes; B, 1,920 grammes; C, témoin, 1,790 grammes) reçoivent 0,5^{cc} de culture charbonneuse. Six heures après, A et B reçoivent 1 gramme de bicarbonate de soude, et à partir du lendemain, trois fois par jour la même injection. — A et C meurent dans la nuit du 11 au 12 février, après avoir perdu respectivement 130 grammes et 60 grammes de leur poids. Dans les deux, bactéridies dans les organes et ensemencements féconds. Le 12 février, B reçoit encore 2 grammes de bicarbonate de soude, et le soir on lui retire 25^{cc} de sang de l'artère crurale. Le lendemain, il ne reste plus trace de cette opération, mais le lapin meurt dans la nuit du 13 au 14 janvier. Nombreuses bactéridies dans les organes, ensemencement féconds.

IV. Le 19 février, à 4 heures et 8 heures du soir, on injecte à deux lapins (A, 2,075 grammes; B, 2,170 grammes) 1 gramme de bicarbonate de soude. Le matin du 20, on en injecte encore 1 gramme. Une heure après on leur inocule, ainsi qu'à un témoin (C, 2,045 grammes) 0,5^{cc} de culture de charbon. A et B continuent ensuite à recevoir trois fois par jour 1 gramme de bicarbonate. — C succombe dans la nuit du 22 au 23, après avoir perdu 205 grammes. Peu de bactéridies dans les préparations. Ensemencements féconds. — A meurt le 22 à 4 heures du soir, après avoir perdu 275 grammes; bactéridies dans les organes et ensemencements féconds. — Le 22 au soir, on retire 25^{cc} de sang de l'artère crurale de B qui succombe dans la nuit, peu de bactéridies dans les préparations; ensemencements féconds.

V. Le 24 février, trois lapins (A, 2,045 grammes; B, 2,045 grammes; C, témoin, 1,905 grammes) reçoivent 0,5^{cc} de culture charbonneuse. Dès le

matin du 25, on commence sur A et B les injections de bicarbonate. Mais A meurt une heure après; on traite alors le témoin, — B meurt à 3 heures; C succombe le 26 à 2 heures du soir. Beaucoup de bactéridies sur les préparations des deux premiers lapins, peu sur celles de C; ensemencements féconds partout.

Comme le virus asporogène s'était évidemment renforcé, j'ai poursuivi mes expériences avec le 2^e vaccin.

VI. Trois lapins (A, 1,870 grammes; B, 1,800 grammes; C, témoin, 1,495 grammes) reçoivent 1^{cc} de culture du second vaccin, ensemencée la veille au soir, et peu abondante. Sept heures après l'inoculation, A et B reçoivent 1 gramme de bicarbonate, et trois nouvelles doses le 28 février et une le 1^{er} mars. — A meurt le 1^{er} mars à 11 heures du matin, après avoir perdu 145 grammes, et avec de nombreuses bactéridies dans les organes; B continue à recevoir le 1^{er} et le 2 mars ses trois injections. Il succombe le 3 mars, à 2 heures du soir, avec une perte de poids de 190 grammes. — Le témoin meurt le 2 mars à 2 heures du soir, avec une perte de poids de 163 grammes. Dans les deux cas, bactéridies dans les organes. Les ensemencements ont été troublés par une impureté accidentelle.

VII. Le 3 mars, on retire, pour en étudier l'alcalinité, 25^{cc} de sang de l'artère crurale de deux lapins qui, trois semaines avant, avaient reçu pendant trois jours trois injections par jour de 1 gramme de bicarbonate. — Le lapin A se rétablit complètement et passe de 2,130 grammes à 2,300 grammes. L'autre, B, conserve une plaie au point d'inoculation, et tombe de 2,170 grammes à 1,740 grammes. On inocule 0,5^{cc} du second vaccin à A et à B, en même temps qu'à un témoin C (1,920 grammes). Cinq heures après; on injecte A et B avec 1 gramme de bicarbonate. Le 4 et le 5, trois injections par jour. Le 6 mars, deux seulement. Tous ces lapins sont restés bien portants.

En faisant le récolement de ces expériences, on voit que :

Sur quatre expériences (I, III, V, VI), portant chacune sur trois lapins, où le traitement a suivi l'inoculation charbonneuse, les témoins sont morts une fois avant les lapins traités, une autre fois en même temps que l'un d'eux et avant le second, une autre fois après le dernier des lapins traités.

Sur deux expériences (II et IV) portant chacune sur trois lapins, où le traitement a précédé l'inoculation virulente, un témoin est mort avant les lapins traités, et le second après eux.

Ainsi le résultat a été aussi négatif qu'à Odessa¹. Cette contradiction absolue avec les résultats de Fodor semble difficilement

1. Depuis la rédaction de ce travail, j'ai reçu un article de M. Behring (*Zeitschr. f. Hyg.*, 1890, p. 463), où se savant annonce brièvement n'avoir pas non plus retrouvé les résultats de M. Fodor, en recommençant ses expériences.

explicable. Pourtant, en y regardant de près, on voit que ce savant n'a pas ensemencé une seule fois le sang ni les organes des animaux morts. Cela eût pourtant éclairé, sans aucun doute, à la fois les causes de la mort chez les 9 lapins donnés comme ayant succombé à des causes indéterminées, et les causes de la guérison de ceux qui ont résisté. Comme M. Fodor signale, chez deux des animaux morts, des abcès volumineux au point d'inoculation, on peut se demander s'il n'a pas inoculé, en même temps que le bicarbonate de soude, des microbes étrangers ayant amené dans quelques cas des désordres mortels, et dans d'autres ayant produit des actions thérapeutiques. Pour m'éclairer à ce sujet, je fais l'expérience suivante.

Le 6 janvier, j'ai inoculé à 3 lapins A, B et C, 0,5^{cc} de culture charbonneuse. Cinq heures après, A et B ont reçu 1 gramme de bicarbonate de soude, en suspension dans 8^{cc} d'eau non stérilisée¹. Le 7 et le 8, ils ont reçu chaque jour trois injections nouvelles. — A succombe le 8 au soir, avec très peu de bactéridies dans le sang et les organes, mais on y voit, avec un fort grossissement, de petits microbes semblables à ceux de la septicémie des lapins. — B succombe dans la nuit du 9 au 10 janvier; pas de bactéridies dans les préparations, mais les ensemencements, au lieu de donner, comme dans les expériences ci-dessus, des cultures pures du bacille charbonneux, fournissent des cultures presque pures de la bactérie étrangère. — Le témoin succombe, dans la nuit du 8 janvier, à une affection charbonneuse certaine.

Restait maintenant à se demander si l'alcalinité du sang était vraiment augmentée par l'addition du bicarbonate de soude. Pour le savoir, j'ai fait quelques expériences préliminaires avec le sérum de bœuf, que je saturais, en prenant comme indicateur le phthalcine du phénol, au moyen d'une solution étendue d'acide sulfurique, titrée au moyen d'une liqueur contenant 8^{gr},30 par litre de carbonate de soude. Sur deux échantillons de sérum conservés au laboratoire en vases clos, j'ai trouvé que l'alcalinité était représentée dans un cas par 0^{gr},00238, dans l'autre par 0^{gr},00228 de carbonate de soude fondu pour 10^{cc} de sérum.

1. Il est utile de dire qu'une partie du bicarbonate de soude reste à l'état de suspension quand on l'introduit dans 8^{cc} d'eau, même chauffée à 30°. Il faut ce garder de secouer ce liquide, de peur d'obstruer la seringue.

Pour prélever du sang de l'artère crurale des lapins, j'y introduisais directement un tube effilé stérilisé. On peut retirer de cette façon de 40 à 50^{cc} de sang pur et stérile.

Le 29 janvier, je prends ainsi, sur un lapin, du sang que je répartis en deux tubes qui, le lendemain, me donnent l'un du sérum bien limpide, l'autre du sérum un peu rougeâtre. Le premier présente un titre de 0^{gr},00204 évalué comme précédemment. Le lendemain, l'autre me donne 0^{gr},00194.

Le 31 janvier, on fait, sur un autre lapin, une prise de sang, qu'on enferme dans un tube hermétiquement clos, et qui, étudié le 3 février, me donne de même 0^{gr},00214 pour un premier essai, et 0^{gr},00204 pour un second. Le 4 février, on trouve 0^{gr},00208.

Le 4 février, on fait une prise sur un lapin qui avait reçu depuis 3 jours trois injections par jour de 1 gramme de bicarbonate de soude. L'alcalinité de son sérum équivalait dans divers essais à 0^{gr},00250,-0^{gr},00280 de carbonate de soude.

Le 6 février, un autre lapin, traité comme le précédent, a donné des chiffres de 0^{gr},00258 à 0^{gr},00266.

On voit donc que l'alcalinité du sang augmente sensiblement à la suite d'injections sous-cutanées de bicarbonate.

Pour étudier l'influence de ce bicarbonate sur des lapins inoculés par le charbon, j'ai fait les expériences suivantes :

Le 10 février, on inocule le charbon à un lapin. Six heures après, on lui injecte 1 gramme de bicarbonate de soude, et le lendemain et le surlendemain il subit trois injections nouvelles par jour. Le 12 au soir, on lui retire du sang dont l'alcalinité était de 0^{gr},00236,-0^{gr},00242.

Le 22 février, on prend du sang d'un lapin inoculé le 20, et sur lequel on avait commencé le 19 les injections de bicarbonate. L'alcalinité était de 0^{gr},00228,-0^{gr},00236.

Ainsi, l'alcalinité semble moindre, dans ces lapins inoculés que dans des lapins non inoculés, ce qu'il faut attribuer à l'infection aiguë qui, comme on sait, diminue l'alcalinité du sang.

On peut donc conclure de tous ces faits que l'augmentation non douteuse de l'alcalinité du sang par l'introduction du bicarbonate de soude dans l'organisme n'a, contrairement à l'assertion de M. Fodor, aucune influence thérapeutique sur la maladie charbonneuse.

LES VACCINATIONS ANTIRABIQUES

A L'INSTITUT PASTEUR EN 1890

PAR M. LÉON PERDRIX.

Pendant l'année 1890, 1,546 personnes ont subi le traitement antirabique à l'Institut Pasteur.

Sur ce nombre, il y a eu 314 étrangers dont voici le détail par nationalité :

Angleterre	56	Hollande	17
Irlande	21	Indes Néerlandaises	2
Indes anglaises	4	Hongrie	8
Allemagne	1	Italie	1
Belgique	101	Monaco	2
Brésil	2	Portugal	67
Égypte	2	Roumanie	1
Espagne	4	Russie	2
États-Unis	3	Turquie d'Asie	4
Grèce	19		

Parmi les 1,546 personnes traitées, 11 sont mortes de rage après la fin des inoculations. La mortalité totale a donc été de 0,71 0/0. Mais sur les 11 personnes mortes de rage après la fin des inoculations, 5 ont succombé plus de 15 jours après la fin du traitement et 6 dans les 15 jours qui l'ont suivi¹.

Pour juger de l'efficacité de la vaccination, il y a lieu de ne faire entrer en ligne de compte que les 5 morts, parce que d'après les expériences faites sur les chiens, on est autorisé à penser que les centres nerveux des personnes mortes de rage

1. On trouvera, dans les *Annales de l'Institut Pasteur*, les noms des personnes décédées, ainsi que les circonstances de leurs morsures et de leur maladie.

dans les 15 jours qui suivent le traitement ont été envahis par le virus rabique pendant le traitement lui-même. Celui-ci n'ayant pu être achevé n'a pas eu toute son efficacité. Nous avons déjà fait observer dans les statistiques antérieures que les chiens inoculés après trépanation, sous la dure-mère, avec le virus de la rage des rues, mettent 14 à 18 jours à prendre la maladie.

Cinq personnes seulement ayant été prises de rage plus de 15 jours après le traitement, on doit établir que les résultats pour l'année 1890, au lieu de se chiffrer par une mortalité de 0,71 0/0, sont en réalité les suivants :

Personnes traitées	1,540 ¹
Mortes	5
Mortalité	0,32 0/0

On voit que la proportion des morts après le traitement est toujours très faible.

Voici, en effet, les résultats généraux des vaccinations depuis l'origine :

ANNÉES	PERSONNES TRAITÉES	MORTS	MORTALITÉ
1886	2.671	25	0,94 %
1887	1.770	13	0,73
1888	1.622	9	0,55
1889	1.830	6	0,33
1890	1.540	5	0,32
	9.433	58	0,61

SIÈGE DES MORSURES.

Au point de vue de leur siège, nous divisons les morsures en trois classes :

- Morsures à la tête et au visage;
- Morsures aux mains;
- Morsures aux membres et au tronc.

Nous rappellerons d'abord que les personnes traitées à l'Institut Pasteur sont divisées en trois catégories, qui forment chacune un tableau.

1. Ce chiffre est différent du nombre 1,546, indiqué plus haut. Comme nous ne comptons pas dans la mortalité les personnes prises de rage dans les 15 jours qui suivent le traitement, nous devons aussi, pour être rigoureux, les retrancher du nombre des personnes traitées.

1^o TABLEAU A. Personnes pour lesquelles la rage de l'animal mordreux est expérimentalement démontrée par le développement de la rage chez un animal inoculé, ou mordu en même temps que la personne traitée.

2^o TABLEAU B. Personnes pour lesquelles la rage de l'animal mordreux est constatée par examen vétérinaire.

3^o TABLEAU C. Personnes mordues par des animaux suspects de rage.

Voici les résultats détaillés pour l'année 1890.

	MORSURES A LA TÊTE et au visage			MORSURES aux mains			MORSURES AUX membres et aux tronc			TOTAL		
	personnes traitées	morts	mortalité	traitées	morts	mortalité	traitées	morts	mortalité	traitées	morts	mortalité
Tableau A.....	32	0	0	260	0	0	124	0	0	416	0	0
Tableau B.....	76	4	1.3	514	3	0.58	319	0	0	909	4	0.44
Tableau C.....	9	0	0	104	4	0.96	102	0	0	215	1	0.46
Totaux	447	4	0.85	878	4	0.45	345	0	0	1.340	5	0.32

Le degré de gravité des morsures se manifeste par la comparaison des chiffres précédents.

La mortalité est en effet :

0,85 pour les morsures à la tête.

0,45 pour les morsures aux mains.

0 pour les morsures aux membres et au tronc.

La statistique générale, depuis l'origine des vaccinations jusqu'au 31 décembre 1890, donne des résultats de même ordre, ainsi que le montre le tableau ci-dessous : le fait est plus sensible parce que les nombres sont plus élevés.

	PERSONNES TRAITÉES	MORTS	MORTALITÉ
Morsures à la tête et au visage ..	789	16	2,02
Morsures aux mains.....	5.265	33	0,62
Aux membres et au tronc.....	3.379	9	0,26
Totaux généraux.....	9.433	58	0,61

DISTRIBUTION DES CAS DE MORSURES PAR DÉPARTEMENTS.

La distribution des cas de morsures par départements est un peu différente de celle qui a été signalée pour les années précédentes.

Dans la Seine, il y a une décroissance marquée; le nombre des personnes qui se sont présentées aux inoculations est en effet :

En 1888 : 480
En 1889 : 262
En 1890 : 443¹

La rage est également en diminution dans plusieurs départements, principalement dans le Finistère, le Morbihan et les Côtes-du-Nord.

Par contre, il y a eu de véritables épidémies dans d'autres régions; au premier rang se place le département du Rhône, où les cas de rage sont toujours très nombreux.

Il y a une augmentation très marquée dans les Alpes-Maritimes et le Var; il en est de même pour les Basses-Pyrénées, le Tarn et le Lot-et-Garonne.

L'Algérie, et en particulier les départements d'Alger et d'Oran, fournissent toujours un fort contingent de personnes mordues.

Le tableau suivant indique le nombre des personnes traitées dans chacun de ces départements, pendant les quatre dernières années.

	NOMBRE DES PERSONNES TRAITÉES			
	1887	1888	1889	1890
Rhône.....	43	48	96	92
Alpes-Maritimes.....	13	0	4	40
Var.....	4	2	3	19
Basses-Pyrénées.....	32	40	20	67
Tarn.....	5	5	14	18
Lot-et-Garonne	26	48	14	30
Alger.....	»	50	62	89
Oran.....	»	52	74	95
Constantine.....	»	41	41	27

1. La Préfecture de police, par l'organe de M. le docteur Dujardin-Beaumetz, publie chaque année la statistique des personnes mordues dans le département de la Seine par des chiens enragés et qui ont subi le traitement antirabique. Pour l'année 1890, cette statistique s'applique à 95 personnes. En réalité, 443 personnes se sont présentées aux inoculations, mais 95 seulement ont subi le traitement complet.

Nous donnons ci-dessous, par départements de France et d'Algérie, le nombre de personnes mordues qui se sont présentées à l'Institut Pasteur, pendant les années 1888, 1889, 1890.

	1888	1889	1890	TOTAL		1888	1889	1890	TOTAL
Ain.....	9	17	44	40	Lot-et-Garonne.....	18	14	30	62
Aisne.....	3	5	8	46	Lozère.....	3	9	4	13
Allier.....	7	6	9	22	Maine-et-Loire.....	2	3	4	6
Alpes (Basses-)	4	3	0	4	Manche.....	1	9	9	19
Alpes (Hautes-)	4	1	2	4	Marne.....	6	4	1	8
Alpes-Maritimes.....	0	1	40	41	Marne (Haute-)	4	2	7	13
Ardèche.....	22	18	44	54	Mayenne.....	0	0	4	4
Ardennes.....	0	7	0	7	Meurthe-et-Moselle.....	3	25	6	36
Ariège.....	3	1	2	6	Meuse.....	3	4	6	12
Auté.....	3	0	0	3	Morbihan.....	24	24	2	50
Aude.....	16	21	9	46	Nièvre.....	4	3	0	7
Aveyron.....	5	17	14	36	Nord.....	9	26	13	48
Bouches-du-Rhône	90	29	40	139	Oise.....	24	16	41	51
Calvados.....	0	2	0	2	Orne.....	2	4	0	3
Cantal.....	43	12	43	38	Pas-de-Calais.....	9	42	4	23
Charente.....	2	4	13	21	Puy-de-Dôme.....	21	13	6	40
Charente-Inférieure.....	3	12	9	24	Pyrénées (Basses)	40	20	67	127
Cher.....	6	1	0	7	Pyrénées (Hautes)	18	25	7	50
Corrèze.....	6	4	7	17	Pyrénées-Orientales	17	43	8	40
Corse.....	2	4	0	3	Rhin (Haut-)	0	0	0	0
Côte-d'Or.....	3	6	41	20	Rhône.....	48	96	92	236
Côtes-du-Nord.....	21	12	0	33	Saône (Haute-)	1	5	4	7
Creuse.....	3	4	5	12	Saône-et-Loire.....	11	44	41	36
Dordogne.....	12	10	41	33	Sarthe.....	2	0	0	2
Doubs.....	3	1	44	45	Savoie.....	19	45	44	48
Drôme.....	20	18	31	69	Savoie (Haute-)	11	22	4	34
Euro.....	8	8	0	16	Seine.....	450	262	113	823
Eure-et-Loir.....	1	2	0	3	Seine-et-Marne.....	14	6	2	22
Finistère.....	18	16	6	40	Seine-et-Oise.....	39	55	37	131
Gard.....	38	24	27	89	Seine-Inférieure.....	22	34	40	63
Garonne (Haute-)	8	39	14	61	Sèvres (Deux-)	4	3	0	4
Gers.....	41	15	46	42	Somme.....	8	4	9	21
Gironde.....	30	22	34	86	Tarn.....	3	14	18	37
Hérault.....	30	33	25	88	Tarn-et-Garonne.....	41	43	45	39
Ille-et-Vilaine.....	14	10	11	35	Var.....	2	3	49	24
Indre.....	1	1	4	6	Vaucluse.....	8	21	15	44
Indre-et-Loire.....	5	1	7	43	Vendée.....	3	0	0	3
Isère.....	33	39	17	409	Vienne	0	4	0	1
Jura.....	3	3	9	45	Vienne (Haute-)	7	3	3	15
Landes.....	11	14	19	44	Vosges.....	3	7	9	19
Loir-et-Cher.....	0	4	1	2	Yonne.....	4	4	2	4
Loire (Haute-)	6	5	0	11	Alger.....	50	62	89	201
Loire.....	24	52	21	97	Oran.....	32	74	95	221
Loire-Inférieure.....	4	11	2	17	Constantine.....	41	41	27	109
Loiret.....	16	11	2	29	Tunisie.....	9	5	23	37
Lot.....	6	29	40	45					

REVUES ET ANALYSES

M. NENCKI. — Les acides lactiques isomères comme moyen de reconnaître certaines espèces microbiennes, *Centralbl. f. Bact.*, t. IX, p. 304.

De quelque côté qu'on étudie les microbes, ils sollicitent et retiennent l'attention. Voici un nouvel exemple de leur intervention dans les questions de pouvoir rotatoire moléculaire. M. Nencki et N. Sieber avaient déjà signalé la présence, dans les tumeurs des cobayes infectés par le charbon symptomatique, d'un micrococcus facultativement anaérobiose, qui fait fermenter le sucre et fournit non pas l'acide lactique inactif, mais l'acide lactique droit qu'on rencontre dans les muscles et qu'on appelle acide paralactique. Ce microbe avait été appelé *micrococcus acidi paralactici*. Depuis, on avait signalé plusieurs champignons à segmentation transverse donnant aussi le même acide paralactique.

Plus récemment, le Dr Schardinger a trouvé dans une eau un autre ferment lactique donnant un acide doué de toutes les propriétés de l'acide paralactique, donnant comme lui un sel de zinc cristallisant avec deux molécules d'eau, un sel de calcium avec quatre molécules et demie ; mais, tandis que l'acide paralactique fait tourner à droite le plan de polarisation à l'état anhydre, et à gauche à l'état de sel, c'est l'inverse pour l'acide du Dr Schardinger, qui a par suite reçu le nom d'acide lactique gauche. En mélangeant des poids moléculaires égaux du nouveau lactate de zinc et du paralactate de zinc de l'acide des muscles, on obtient un lactate de zinc inactif, cristallisant avec 3 molécules d'eau, et identique par conséquent avec celui qu'on prépare au moyen de l'acide lactique de fermentation. C'est là, comme on voit, une répétition des phénomènes déjà observés avec l'acide tartrique, et ailleurs. Ils sont dus à la présence d'un atome de carbone asymétrique dans l'acide éthylidène-lactique. Mais il y a ceci en plus, c'est qu'ici

1. *Wiener Akademieberichte, Monatshefte f. Chemie*, t. X, 1889.

2. *Id.*, Séance du 4 décembre 1890.

nous pouvons préparer à volonté l'acide lactique droit ou gauche, avec un sucre qui est droit. Il sera intéressant de chercher quelle influence peut exercer sur le phénomène le pouvoir rotatoire du sucre original.

Au point de vue pratique, voilà une obligation nouvelle pour tous ceux qui étudient la chimie des fermentations. Lorsqu'ils rencontreront de l'acide lactique, il faudra qu'ils recherchent si c'est l'acide droit, gauche, ou inactif. Par exemple M. Nencki et N. Sieber avaient signalé, dans le travail cité plus haut, la présence dans l'intestin grêle d'un bacille très semblable au *bacterium coli commune*, qui a sans doute été souvent confondu avec lui, mais qui pourtant est différent, car en le soumettant à une étude plus approfondie, le Dr Bischler a vu qu'il donnait avec le sucre de l'acide lactique inactif, tandis que le *bact. coli commune* donne de l'acide paralactique; et ce n'est pas là chez eux une propriété variable et transitoire, car ils la portent dans toutes les cultures, même impures, dont ils font partie.

On retrouve là un nouvel exemple de cette notion, sortie des premiers travaux de M. Pasteur, que ce sont les propriétés biologiques, et non la morphologie, qui peuvent servir à différencier les microbes. C'est pour cela que ces *Annales* se sont jusqu'ici refusées à toute classification prématurée. Chaque année de travail fond ensemble des espèces qu'on croyait distinctes, et en sépare d'autres qu'on croyait identiques.

En présence de ces nécessités d'ordre chimique qui surgissent, il ne sera pas inutile de dire comment on s'y prend en général pour étudier les produits de fermentation, dans le laboratoire de M. Nencki, dont la réputation est faite dans ce genre de recherches.

Dans un litre de bouillon de veau ou d'une solution à 10 0/0 de peptone Chapoteaut, on dissout 50 à 80 grammes de sucre, de glycérine, ou de l'alcool polyatomique à étudier; on ajoute de 20 à 30 grammes de carbonate de chaux faiblement calciné; on stérilise à l'autoclave à 115°, et suivant les cas, on ferme soit avec un tampon de ouate, soit avec un bouchon à deux trous, portant deux tubes par lesquels on fait passer avant l'ensemencement un courant d'acide carbonique. Quand la fermentation est terminée, ce qui exige toujours un temps plus long à l'abri qu'au contact de l'air, on titre le sucre restant, on décante ou on filtre la culture. Le dépôt n'est d'ordinaire formé que de carbonate de chaux, mais, comme il pourrait contenir aussi du succinate de chaux, on le dissout dans un léger excès d'acide chlorhydrique et on l'épuise par un mélange de 2 d'éther et 4 d'alcool.

Le liquide filtré est précipité par l'acide oxalique, filtré et distillé, et qui sépare l'alcool et les acides volatils. En saturant par la potasse

le liquide distillé, et en distillant à nouveau, on isole l'alcool ou les alcools. Les acides volatils restent à l'état de sels dans la cornue.

Quant au résidu de la première distillation, qui contient les acides fixes, on l'évapore à consistance sirupeuse, et on l'épuise par l'éther, qui dissout l'acide oxalique ajouté en excès, l'acide lactique, et éventuellement l'acide succinique. En évaporant l'éther, on obtient un résidu sirupeux qu'on décoloré en le faisant bouillir avec de l'eau et un peu de noir animal, et qu'on soumet alors à une étude polarimétrique. En faisant bouillir avec de l'oxyde de zinc, on sépare l'acide oxalique à l'état d'oxalate de zinc qui reste insoluble. Le succinate de zinc, très peu soluble, se sépare facilement du lactate de zinc, très soluble ; il suffit d'évaporer à siccité, et de reprendre le résidu cristallisé par un peu d'eau chaude qui laisse le succinate de zinc. Le lactate de zinc est alors facile à étudier. Si la solution éthérée s'est montrée active au polarimètre, il faut s'attendre à trouver le sel de zinc avec 12,9 0/0 d'eau de cristallisation. Mais pour plus de sûreté, il faut étudier le sel de zinc au polarimètre.

Dx.

INSTITUT PASTEUR

Personnes traitées mortes de rage.

BINET Auguste, 75 ans, demeurant à Méaulte (Somme). — Mordu le 5 décembre 1890 par un chien reconnu enragé à l'autopsie par M. Lemaire, vétérinaire à Albert.

Binet présente une morsure par piqûre peu profonde, ayant saigné, sur la première phalange de l'index droit. Cette blessure n'a pas été cautérisée.

Son traitement a commencé seulement le 13 décembre (8 jours après l'accident) ; il a été terminé le 27 décembre.

Le 8 avril, Binet tombe malade ; il a de l'hydrophobie, du délire, des hallucinations, de la photophobie. Les phénomènes s'accentuent de jour en jour et la mort survient le 15 avril. (Rapport de M. le Dr De le Vallé, à Albert.)

Binet fait partie de la statistique de 1890 ; il est compris dans le nombre de morts indiqué dans cette statistique.

INSTITUT PASTEUR

STATISTIQUE¹ DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE. — AVRIL 1891.

	A	B	C
Morsures à la tête { simples	» » 1	» 5 7	» » »
et à la figure { multiples	» 1 » 2	» » »	» » »
Cautérisations efficaces	» » » » »	» » »	» » »
— inefficaces	» » » 3 » »	» » »	» » »
Pas de cautérisation	4 » » 4	» » »	» » »
Morsures aux mains { simples	» 9 17	» 24 54	» 3 14
et multiples	» 8 » 30	» 54 »	» 11 »
Cautérisations efficaces	» » » 4 » »	» 1 » »	» » »
— inefficaces	6 » » 23 » »	» 10 » »	» » »
Pas de cautérisation	41 » » 30	» » »	3 » »
Morsures aux membres et au tronc { simples	» 2 3	» 12 30	» 1 12
et multiples	» 1 » 18	» 30 »	» 11 »
Cautérisations efficaces	4 » » 4 » »	» 2 » »	» » »
— inefficaces	4 » » 19 » »	» 9 » »	» » »
Pas de cautérisation	4 » » 10 » »	» 4 » »	» » »
Habits déchirés	3 » » 28 » »	» » »	12 » »
Morsures à nu	» » » 2 » »	» » »	» » »
Morsures multiples en divers points du corps	» » » » 5 5	» » »	3 3
Cautérisations efficaces	» » » » » »	» » »	1 » »
— inefficaces	» » » » 3 » »	» » »	1 » »
Pas de cautérisation	» » » 2 » »	» » »	1 » »
Habits déchirés	» » » 4 » »	» » »	2 » »
Morsures à nu	» » » 5 » »	» » »	3 » »
<hr/>			
Totaux. { Français et Algériens	20 21	88 96	25 29
Etrangers	1	8	4
<hr/>			
	A	B	C
TOTAL GÉNÉRAL			1 46

4. La colonne A comprend les personnes mordues par des animaux dont la rage est reconnue expérimentalement; la colonne B celles mordues par des animaux reconnus engrangés à l'examen vétérinaire; la colonne C les personnes mordues par des animaux suspects de rage.

Les animaux mordeurs ont été : chiens, 135 fois; chats, 7 fois; cheval, 2 fois; âne, 1 fois; vaches, 1 fois.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire et fils.